P. 3966

HALIOTIS

VOL. 29
1999 (2000)

issn 0397.765 x

SOCIETE FRANÇAISE DE MALACOLOGIE

Haliotis, revue de la Société Française de Malacologie, est ouverte à des articles originaux couvrant tous les aspects de l'étude des Mollusques. Son rythme de parution est en principe annuel, avec un ou plusieurs fascicules.

La soumission d'un manuscrit à *Haliotis* sous-entend qu'il n'est pas publié ou sous presse ailleurs. Les auteurs qui désireront utiliser ultérieurement des matériaux publiés dans *Haliotis* devront préalablement obtenir la permission de la S.F.M.

Soumission des manuscrits

Les textes doivent être saisis sous un traitement de texte d'usage courant. Il sera soumis dans un premier temps deux exemplaires tirés sur format A4 avec double interligne, ainsi que deux copies des illustrations. Les manuscrits sont à adresser au secrétariat général de la S.F.M., 55 rue Buffon, 75005 Paris, ou à un des membres du comité de rédaction. *Les auteurs sont instamment priés de prendre contact avec le secrétariat de la S.F.M. avant tout envoi de manuscrit.*

Le manuscrit sera lu par un ou plusieurs spécialistes choisi(s) par le comité de rédaction, dont les commentaires seront adressés à l'auteur (sous forme anonyme ou non au choix du rapporteur). L'auteur a l'obligation de prendre en considération les commentaires du rapporteur et adressera s'il y a lieu une version révisée ainsi qu'une copie de la disquette de texte. Le comité de rédaction prendra, au vu des commentaires du rapporteur, une décision d'acceptation ou de refus du manuscrit.

Organisation du texte

- titre concis et informatif: pensez qu'il doit servir à l'indexation. Si le titre contient un nom de genre ou d'espèce peu connu, ce nom sera accompagné du nom d'un taxon supraspécifique
- prénoms (en entier) et noms des auteurs
- adresses des auteurs.
- "abstract" en Anglais, précédé du titre en Anglais.
- résumé (dans la langue du texte de l'article) exposant les principaux résultats, mais pas de descriptions de taxa nouveaux éventuellement introduits dans l'article. Un résumé en Français est nécessaire si l'article est écrit dans une autre langue.
- texte proprement dit comprenant, dans cet ordre, Introduction, Matériel et méthodes, Résultats, Discussion, Conclusions, Remerciements, Bibliographie.

Les niveaux hiérarchiques de sous-titres seront limités le plus possible. Les sous-titres ne seront en aucun cas numérotés.

Illustrations

Seules les illustrations en noir et blanc seront prises en charge par la revue. Le surcoût des illustrations en couleur sera à la charge des auteurs.

Les illustrations doivent être de bonne qualité, prêtes à cliché. Les dessins seront de préférence réalisés à une dimension supérieure à leur taille finale, et seront accompagnés d'une photocopie réduite à la taille finale désirée par l'auteur. La dimension des lettrages utilisés devra tenir compte de cette réduction et leur taille une fois réduite sera au moins de 1,5 mm. Pour les tableaux et graphiques, des tirages d'imprimante laser ou à jet d'encre sur papier sont acceptables comme originaux. Les cartes devront faire figurer des coordonnées géographiques et avoir un cadre.

Les photographies seront montées avec leurs lettrages définitifs, à la dimension sous laquelle elles doivent être publiées. Les planches photographiques mesurent au maximum 16,5 x 23 cm.

Toutes les figures doivent être numérotées en une série unique, qu'il s'agisse de dessins, de photographies montées en planche ou de graphiques. Les tableaux (comportant exclusivement du texte ou des chiffres, à l'exclusion de graphiques) seront numérotés en une autre série. Les légendes des figures et des tableaux seront regroupées sur une feuille à part, et copiées également dans la disquette. Les auteurs pourront indiquer dans le texte la position souhaitée des figures et tableaux.

(suite sur la 3e page de couverture)

MUSEUM

Etude préliminaire des interactions entre adultes et juvéniles chez *Planorbarius metidjensis* (Mollusque, Planorbidae)

Abdelaziz AIT ELABD [1], *Khalid CHAABANE* [1,2] *et Mohamed KHARBOUA* [1]

ABSTRACT

Preliminary study of interactions between adults and juveniles in *Planorbarius metidjensis* (Mollusca, Planorbidae)

The laboratory study of the interactions between adults and juvenile *Planorbarius metidjensis*, intermediate host of *Schistosoma bovis*, reveals the following aspects: the presence of adults (size > 5mm) slows down the growth and delays the sexual maturity of juveniles. This action, which is density dependent, is reversible. Indeed, the resumption of juvenile growth in clean water without any adults is normal. Moreover, the juveniles preserve all their potentialities of reproduction.

This intraspecific control of the growth and sexual maturity, possibly exerted through secretion of pheromones or metabolic products, can be considered as an adaptive response to the mediterranean climate constraints. The implications of this adaptive strategy are discussed.

RÉSUMÉ

L'étude des interactions, en conditions de laboratoire, entre les adultes et les juvéniles de *Planorbarius metidjensis*, hôte intermédiaire de *Schistosoma bovis*, fait apparaître les aspects suivants: la présence des adultes (taille > 5mm) freine la croissance et retarde la maturité sexuelle chez les jeunes. Cet effet, dépendant de la densité, est réversible. En effet, remis dans une eau propre et sans adultes, la reprise de la croissance chez les juvéniles est normale, et toutes leurs potentialités de reproduction sont conservées.

Ce contrôle intraspécifique de la croissance et de la maturité sexuelle, exercé soit par la sécrétion de phéromones soit par des produits métaboliques, résulte vraisemblablement d'une adaptation aux contraintes saisonnières du climat méditerranéen. Les implications de cette stratégie adaptative sont discutées.

1 Laboratoire d'hydrobiologie et d'écologie générale, département de biologie, Faculté des Sciences, B.P. 724, Oujda. Maroc.

2 Laboratoire de zoologie systématique et d'écologie animale, département de biologie animale, C.P. 160/13, Université Libre de Bruxelles, 50, Av. F. Roosevelt, B-1050, Bruxelles, Belgique.

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

Bibliothèque Centrale Muséum
3 3001 00128826 4

INTRODUCTION

Des travaux réalisés en conditions artificielles ou semi-naturelles sur des mollusques vecteurs de bilharzioses (*Schistosoma sp.*) ont mis en évidence des phénomènes de compétition intraspécifique (*Biomphalaria camerunensis*, Madsen, 1984) et même interspécifique (*Helisoma duryi* sur *Biomphalaria camerunensis*, Madsen, 1984). Plusieurs auteurs ont montré l'influence de ces compétitions sur le développement ou la reproduction de ces mollusques. Cette compétition, qui a pour conséquence un effet sur le développement ainsi que sur la reproduction (Thomas et *al.*, 1975a et b) a été démontrée au laboratoire ou dans des conditions semi-naturelles (Abdallah et Nasr, 1973; Malek et Malek, 1978; Madsen et Frandsen, 1979; Mandahl-Barth, 1970).

Ainsi, Madsen (1982) a démontré un effet positif d'*Helisoma duryi* sur la croissance, juste après l'éclosion, de *Bulinus truncatus* et de *Biomphalaria alexandrina*, mais également un effet inhibiteur sur le développement des masses d'œufs submergés dans une eau conditionnée par *H. duryi*. En 1984, ce même auteur a démontré l'existence d'un contrôle intraspécifique, exercé par les adultes sur la croissance et la reproduction des juvéniles chez *Biomphalaria camerunensis*.

Parmi les espèces de mollusques (Planorbidae) citées dans la littérature, *Planorbarius metidjensis* (Forbes, 1838), hôte intermédiaire de bilharziose à *Schistosoma sp.*, signalée pour la première fois dans la vallée de Metidja en Algérie, est la moins étudiée, et une compétition intraspécifique et interspécifique n'y a jamais été décrite.

Lors de l'élevage au laboratoire de *Planorbarius metidjensis*, il nous a semblé que, en présence d'adultes, les juvéniles montraient une importante mortalité et que les survivants avaient la croissance ralentie. Ceci nous a amené à émettre l'hypothèse d'une possible influence des adultes sur le développement des juvéniles, ce que La présente note se propose de vérifier.

MATERIEL ET METHODES

Echantillons

Des planorbes récoltées le 05-05-1996 dans la station Arbâa Mâachou, (affluent de l'oued Tensift; province de Safi, Maroc), ont été acclimatées au laboratoire jusqu'au 22-06-1996. La taille des individus ayant pondu au laboratoire, témoignant par-là de leur maturité sexuelle (Tableau 3), variait de 6,5 à 7,0 mm de diamètre.

Les planorbes juvéniles utilisées dans cette expérience sont issues d'une cohorte unique éclose le 06 juin 1996 et sont donc âgées de 16 jours au début des expériences. Leur taille (Tableau 1) varie de 1,4 à 1,5 mm.

Protocole expérimental

Les planorbes sont maintenues au laboratoire sous des conditions d'éclairage (Jour/nuit = 12/12) et de température ambiante (20° ± 2°C) dans des bacs en P.V.C. de couleur blanche et mesurant 20 x 12 x 10 cm (longueur, largeur, hauteur), soit un volume total de 2.400 cm^3.

Les bacs sont remplis d'eau courante (robinet) renouvelée dans sa totalité chaque semaine; le volume d'eau est ajusté à 1.800 cm^3.

Les planorbes sont nourries de laitues en excès et de Tetramin tous les trois jours (Madsen et Frandsen, 1980). Le Tetramin est servi à faible dose (10 à 15 mg) pour éviter qu'il fermente dans l'eau.

Deux compartiments égaux sont aménagés dans les bacs à l'aide d'un filet à mailles très fines (1mm^2). Les individus sexuellement mûrs et les juvéniles sont placés de part et d'autre de la séparation, de manière à éliminer toute possibilité d'interférences physiques ou de compétition trophique. Six jeunes planorbes sont présentes dans le premier compartiment. Ce nombre est choisi en référence à d'autres travaux (El Emam & Madsen, 1982; Madsen, 1984).

Différents effectifs d'adultes sont répartis dans le second compartiment d'élevage: 9, 18 et 27 adultes/par bac, soit donc des densités respectives de 1 adulte/200ml, 1 adulte/100ml et 1 adulte/66ml.

Au total 12 bacs ont été utilisés: 3 bacs constitués chacun de 6 jeunes et de 9 adultes(groupe I), 3 bacs de 6 jeunes et 18 adultes (groupe II), 3 bacs de 6 jeunes et 27 adultes (groupe III) et 3 bacs constitués de 6 jeunes et de zéro adultes (groupe témoin).

Mesures effectuées

Les expériences ont duré huit semaines et ont comporté deux étapes

- la première (quatre semaines), où le suivi des jeunes planorbes comporte une mesure hebdomadaire du grand diamètre de la coquille à l'aide d'un métroscope gradué au 0,05mm près et un relevé de ponte pour préciser la date de l'installation de la maturité sexuelle. Les jeunes planorbes mortes sont supprimées des bacs d'élevage sans être remplacées.

En ce qui concerne les adultes, une première mesure du grand diamètre est effectuée au début de la manipulation et une seconde après quatre semaines; le relevé des pontes est effectué chaque semaine. Contrairement aux jeunes planorbes, les adultes morts sont remplacés par d'autres de même taille (Madsen, 1984).

- la deuxième, où on a procédé à l'élimination des adultes dans l'un des trois bacs qui constituent le groupe III (6 jeunes et 27 adultes): les deux autres bacs du même groupe constituent alors les groupes témoins.

RESULTATS

Développement des jeunes planorbes

L'analyse de la variance a montré que la différence du diamètre des coquilles dans les trois bacs qui constituent chaque groupe est non significative. On a donc groupé les données des 3 bacs du même groupe. Le développement des jeunes dans les bacs témoins se fait beaucoup plus vite que dans les groupes I, II et III (Tableau 1 et Figure 1). La comparaison des moyennes par l'analyse de variance à un critère de variation (AVI) montre qu'à la semaine 0, il n'existe pas de différence significative entre la taille des témoins et les différents groupes. Cette différence devient très significative à partir de la quatrième semaine. De même, il existe une différence significative entre les groupes en fonction de la densité des adultes de conditionnement (Tableau 1).

Tableau 1. Evolution du grand diamètre (D en mm) de la coquille des jeunes planorbes en présence et en absence d'adultes. Ad: adultes, Juv: juvéniles, n: nombre total des juvéniles, ±: écart-type.

Semaines	Témoins	Groupe I	Groupe II	Groupe III	A.V.I
	3 bacs (0 Ad, 6 Juv)	3 bacs (9 Ad, 6 Juv)	3 bacs (18 Ad, 6 Juv)	3 bacs (27 Ad, 6 Juv)	
S0	1,44 ± 0,04 (n=18)	1,44 ± 0,06 (n=18)	1,42 ± 0,04 (n=18)	1,42 ± 0,04 (n=18)	N S
S1	2,52 ± 0,14 (n=18)	2,21 ± 0,12 (n=18)	1,91 ± 0,06 (n=18)	1,89 ± 0,15 (n=18)	N S
S2	4,34 ± 0,29 (n=18)	2,90 ± 0,15 (n=18)	2,26 ± 0,12 (n=18)	2,30 ± 0,16 (n=18)	N S
S3	5,57 ± 0,38 (n=18)	3,06 ± 0,20 (n=17)	2,50 ± 0,14 (n=15)	2,48 ± 0,11 (n=17)	N S
S4	5,83 ± 0,27 (n=18)	3,13 ± 0,28 (n=10)	2,63 ± 0,13 (n=12)	2,57 ± 0,11 (n=16)	P< 0,001
S5	6,02 ± 0,26 (n=18)	3,22 ± 0,32 (n=10)	2,63 ± 0,03 (n=6)	2,56 ± 0,13 (n=16)	P< 0,001
S6	6,19 ± 0,25 (n=18)	3,42 ± 0,31 (n=7)	2,75 ± 0,10 (n=2)	2,64 ± 0,16 (n=16)	P< 0,001
S7	6,57 ± 0,29 (n=18)	—	—	2,66 ± 0,19 (n=16)	
S8	6,82 ± 0,29 (n=18)	—	—	2,77 ± 0,16 (n=16)	

Tableau 2. Evolution du grand diamètre de la coquille (D en mm) des jeunes planorbes après élimination des adultes d'un des trois bacs du groupe III à la quatrième semaine. n: nombre total des juvéniles, ±: écart-type.

Semaines	Groupe III 3 bacs (27 Ad, 6 Juv)		Test -t de student
	Avec adultes (2 bacs)	sans adultes (1 bac)	
S4	2,57 ± 0,11 (n=11)	2,63 ± 0,08 (n=5)	N S
S5	2,56 ± 0,13 (n=11)	3,70 ± 0,11 (n=5)	P<0,05
S6	2,64 ± 0,16 (n=11)	5,46 ± 0,20 (n=5)	P<0,05
S7	2,66 ± 0,19 (n=11)	6,52 ± 0,19 (n=5)	P<0,05
S8	2,77 ± 0,16 (n=11)	6,62 ± 0,13 (n=5)	P<0,05

Tableau 3. Evolution du grand diamètre (D en mm) de la coquille des adultes.S: semaine, n: nombre total des adultes, ±: écart-type.

	diamètre moyen à S0	Diamètre moyen à S4	Test-t de Student	Accroissement absolu en mm	Accroissement relatif en %
Groupe I (n=27)	6,72 ± 0,17 mm	8,40 ± 0,32 mm	<0,05	1,48 ± 0,49 mm	22 ± 7,9 %
Groupe II (n=54)	6,76 ± 0,17 mm	7,61 ± 0,44 mm	<0,05	0,85 ± 0,61 mm	12,6 ± 9 %
Groupe III (n=81)	6,69 ± 0,29 mm	7,40 ± 0,39 mm	<0,05	0,71 ± 0,68 mm	10,6 ± 10,2 %
A.V.I	N.S	P<0,001			

Dès la troisième semaine, soit un âge de 36 jours, on constate un début de ponte chez les témoins, alors qu'aucune ponte n'est enregistrée dans les 3 autres groupes, même au-delà de la huitième semaine. La taille moyenne au moment de la ponte chez les témoins est de 5,57 ± 0,38mm. A cet âge, les autres n'ont atteint que 3,06 ± 0,2 mm, 2,5 ± 0,14 mm et 2,48 ± 0,11 mm respectivement pour les groupes I, II et III.

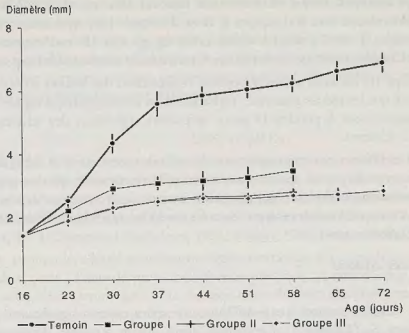


Figure 1. Evolution de la taille chez les jeunes planorbes en présence ou en l'absence des adultes durant 8 semaines d'élevage (la semaine S_0 correspond à un âge de 16 jours).

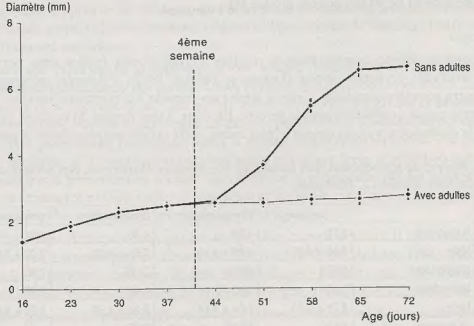


Figure 2. Evolution de la taille chez les jeunes planorbes du groupe III après séparation des adultes à la quatrième semaine (la semaine S_0 correspond à un âge de 16 jours).

Après quatre semaines, la mortalité est nulle chez les témoins, alors qu'elle est de 44%, 67% et 22% respectivement dans les groupes I, II et III. Après huit semaines, toutes les jeunes planorbes des groupes I et II étaient mortes; celles du groupe III ont montré un taux de mortalité de 42%. Chez les témoins, la mortalité est restée nulle durant toute l'expérience.

Dans le groupe III où nous avons procédé à l'élimination des adultes d'un des trois bacs, nous avons constaté que les jeunes planorbes reprenaient un développement rapide (Tableau 2 et Figure. 2) et commençaient à pondre 14 jours après leur séparation des adultes, à une taille moyenne de 5,46 ± 0,20mm.

Cette taille ne différait pas statistiquement de celle des témoins ($t = 0,59$, $ddl = 11$, $p > 0,05$). Cela nous permet de penser que la maturité sexuelle ne s'installe que lorsque les juvéniles atteignent, indépendamment de leur âge, une taille critique légèrement supérieure à 5mm. La figure 2 montre un taux de croissance élevé chez les juvéniles après leur séparation des adultes, même par rapport aux témoins.

Développement des adultes

Croissance

L'analyse de variance montre que la différence de tailles est non significative pour tous les groupes à la semaine S_0 (Tableau 3). Cependant, après quatre semaines d'évolution dans des conditions de nourriture, de température et de régime photopériodique identiques, la différence devient très significative. On note un gain de croissance de moins en moins important pour une densité d'adulte élevée avec un accroissement relatif de 22% pour le groupe I, de 12,6% pour le groupe II et seulement de 10,6% pour le groupe III.

Reproduction

La fécondité, définie comme étant le nombre moyen d'œufs fertiles émis par individu pendant un intervalle de temps donné (Loreau et Baluku, 1987), a diminué progressivement durant les quatre premières semaines. Celle-ci atteint ses minima à la quatrième semaine (Tableau 4) et ne montre pas de corrélation avec la densité. En effet, à une densité d'un adulte par 100 ml (groupe II), la fécondité est à son niveau le plus faible, alors qu'elle est plus élevée à une densité

Tableau 4. Activité de reproduction chez les adultes. Ne: Nombre d'embryons; Np: nombre de pontes; ind: individu; sem: semaine; ±: écart-type.

		1ère semaine	2ème semaine	3ème semaine	4ème semaine
Groupe I	Np/ind/sem	3,10	4,90	4,10	1,00
(n=27)	Ne/p	9,56 ± 4,20	9,66 ± 4,50	7,65 ± 4,30	7,00 ± 3,50
	Ne/ind/sem	29,70	47,20	31,40	7,00
Groupe II	Np/ind/sem	1,80	1,40	1,00	0,28
(n=54)	Ne/p	8,71 ± 3,10	7,04 ± 4,04	5,28 ± 4,36	5,20 ± 2,56
	ne/ind/sem	16,40	10,20	5,28	1,44
Groupe III	Np/ind/sem	2,44	2,19	2,48	0,81
(n=81)	Ne/p	8,58 ± 3,13	8,07 ± 2,25	5,99 ± 2,91	4,59 ± 1,40
	Ne/ind/sem	20,96	17,63	14,85	3,74

d'un adulte par 66 ml (groupe III). Quant à la variation de la taille moyenne des pontes (Ne/P), on constate que cette taille est plus grande pour le groupe I, et ceci tout au long de la période du suivi. Cette importance des tailles des pontes, à faible densité (groupe I), s'associe à une grande fertilité et une fécondité nettement plus élevée qu'aux densités moyenne et élevée (groupe II et III). Pour ces deux derniers groupes, on constate qu'ils ont des pontes de même taille (même Ne/p) alors que leurs fécondités sont différentes.

DISCUSSION

Les résultats obtenus montrent l'existence d'une interaction entre les adultes et les juvéniles. Elle se manifeste par une réduction de la croissance des juvéniles qui n'atteignent pas la maturité sexuelle même après 8 semaines. Cette inhibition intraspécifique de la croissance et de la reproduction a été démontrée chez de nombreuses espèces de mollusque d'eau douce (Turner, 1927; Thomas, 1973; Chernin et Michelson, 1957; Wright, 1960; Berrie, 1968; Coelho et *al*, 1977).

Dans le protocole adopté pour notre expérimentation, il est évident que les planorbes, jeunes et adultes, sont à l'abri de toute interférence physique à cause de leur faible densité. De même, une compétition trophique ou la carence d'un élément essentiel semble exclue, vu les conditions de nourriture en principe optimales (Madsen et Frandsen, 1980).

Madsen (1984) utilise un système d'élevage où l'eau, n'est pas renouvelée durant toute la période d'étude, ceci dans le but d'exposer les mollusques jeunes, de façon continue, à un éventuel inhibiteur susceptible de s'accumuler tout au long de cette période. Thomas (1973) propose au contraire un système où l'eau est changée régulièrement. Nous avons adopté ce dernier protocole après avoir constaté, lors d'un essai préliminaire, que la mortalité des jeunes éclos est totale après 15 jours dans un système analogue à celui de Madsen (1984) et ceci, quelle que soit la densité des adultes.

Dans nos expériences, la suppression des adultes (Figure 2) s'accompagne aussitôt d'un développement spectaculaire des juvéniles. Ces derniers ont donc conservé toutes leurs capacités de croissance et de reproduction. Ceci rejoint les observations d'El Emam et Madsen (1982) qui démontrent qu'une inhibition prolongée du développement chez *Helisoma duryi* n'entraîne pas la perte de leurs potentialités biologiques après la remise en bonnes conditions. Par analogie, nous pouvons admettre qu'il s'agit également dans notre cas d'une levée d'inhibition qui est imposée directement par la présence des adultes. Ceci suppose la production par les adultes d'un facteur inhibant la croissance et dont l'effet se manifeste et disparaît consécutivement à l'introduction et à la suppression des adultes dans les enceintes d'élevage.

L'hypothèse d'une sécrétion par les adultes d'un facteur inhibant la croissance des juvéniles est notamment soutenue par les travaux de Thomas (1973) et Madsen (1984) chez *Biomphalaria camerunensis*. Cependant, certains déchets métaboliques produits par les adultes pourraient également inhiber le développement de juvéniles (Wright, 1960 et Berrie, 1968).

Quel que soit le mécanisme impliqué, l'existence d'une inhibition intraspécifique de la croissance et de la maturité sexuelle, exercée par les adultes vis-à-vis des juvéniles, agit vraisemblablement comme un facteur d'autorégulation au sein des populations de *Planorbarius metidjensis*. Cette propriété d'autorégulation résulterait très probablement d'une sélection naturelle permettant à cette espèce de conserver, pendant la période d'étiage où les planorbes se trouvent

concentrées dans des flaques d'eau isolées, la totalité de leurs potentialités biologiques, notamment, l'aptitude à se reproduire après des périodes de conditions extrêmes plus ou moins prolongées. En effet, d'après les observations faites au cours de l'étude du cycle de développement de *P. metidjensis* au laboratoire et dans le milieu naturel (travail non publié), on a pu constater que les adultes pondeurs qui ont survécu à la période d'étiage (dans le milieu naturel) ou qui ont passé l'été en élevage au laboratoire, sont soit incapables de pondre soit produisent des œufs stériles. Ce sont en fait les juvéniles, après la levée de l'inhibition exercée par les adultes, lors de la saison des pluies, qui vont se développer et se reproduire.

CONCLUSIONS

Outre les aspects multiples de la compétition intraspécifique au sein des populations de mollusques, l'un au moins se révèle être plus ou moins dépendant d'une stratégie d'adaptation d'autant plus utile et efficace qu'elle vise à assurer la pérennité d'une espèce où le devoir de chaque individu est de s'assurer une meilleure survie afin de participer à la reproduction et par-là, à l'épanouissement de son espèce.

Chez l'espèce *Planorbarius metidjensis*, et dans le cadre d'un contrôle exercé par les adultes sur les juvéniles et qui se manifeste par une diminution de la croissance et un retard de la maturité sexuelle, les juvéniles et par-là toute la population soumise à des contraintes du milieu naturel, conservent un potentiel de croissance et de reproduction énorme. Ce potentiel est toutefois susceptible de s'exprimer lors de conditions favorables. Ainsi au cours de notre expérimentation, nous avons pu mettre en évidence l'existence d'une influence directe des adultes sur les juvéniles en conditions de laboratoire. Mais, il reste à savoir s'il en est de même dans le milieu naturel ?. La réversibilité de l'action des adultes s'est révélée grâce à la reprise de la croissance puis la reproduction des juvéniles ayant été exposés aux adultes durant la première période de l'expérimentation. Ainsi, les conséquences directes de ce contrôle s'avèrent être favorables à l'espèce, et contribuent au maintien des populations dans le milieu naturel.

REFERENCES

Abdallah A. et Nasr T., 1973. *Helisoma duryi* as a means of biological control of schistosomiasis vector snails. *Journal of the Egyptian Medical Association* **56**: 514-519.

Bailey N.T.J., 1974. *Statistical methods in biology*. Lion library, London.

Berrie A.D., 1968. Prolonged inhibition of growth in a natural population of the freshwater snail *Biomphalaria sudanica tanganyicensis* (Smith) in Uganda. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **62**: 45-51.

Chernin E. &. Michelson E.H, 1957. Studies on the biological control of schistosome-bearing snails. III. The effects of population density on growth and fecundity in *Australorbis glabratus*. *American Journal of Hygiene* **65**: 57-70.

Coelho P.M.Z.,. Figuiredo Y.P., Pellegrino J., &. Melo G.R., 1977. *Biomphalaria glabrata* the crowding effect related to aquarium components. *Journal of Parasitology* **63**: 284.

El Emam M.A. & Madsen H., 1982 The effect of temperature, darkness, starvation and various food types on growth, survival and reproduction of *Helisoma duryi*, *Biomphalaria alexandrina* and *Bulinus truncatus* (Gastropoda: Planorbidae). *Hydrobiologia* **28**: 265-275.

Loreau M., & Baluku B., 1987. Growth and demography of populations *of Biomphalaria pfeifferi* (Gastropoda, Planorbidae) in the laboratory. *Journal of Molluscan Studies* **53**. 171-177.

Madsen H. &. Frandsen F., 1979 Studies on the interspecific competition between *Helisoma duryi* (Wetherby) and *Biomphalaria camerunensis* (Boettger). Size-weight relationships and laboratory competition experiments. *Hydrobiologia* **66**: 17-23.

Madsen H & Frandsen F., 1980 An additional food for laboratory culture of some species of freshwater pulmonate snails. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **74**: 1-2

Madsen H., 1982 Developement of egg masses and growth of newly hatched snails of some species of intermediate hosts of schistosomiasis in water conditioned *by Helisoma duryi* (Wetherby) (Pulmonata Planorbidae). *Malacologia* **22**: 427-434

Madsen H., 1984 The effect of water conditioned by either *Helisoma duryi* or *Biomphalaria camerunensis* on the growth and reproduction of juvenile *B. camerunensis* (Pulmonata, Planorbidae) *Journal of Applied Ecology* **21**: 757-772.

Malek E.A & Malek R.R., 1978 Potential biological control of schistosomiasis intermediate hosts by helisome snails. *The Nautilus* **92**. 15-18.

Mandahl Barth G., 1970 Biological control of Bilharzial snails by *Helisoma*. O.A.U. Symposium on Schistosomiasis, Addis Abeba: 233.

Thomas J.D., 1973 Schistosomiasis and the control of molluscan hosts of human schistosomes with particular reference to possible self-regulatory mechanisms *Advances in Parasitology* **11**. 307-394

Thomas J.D., Goldsworthy G.J. & Aram R.H., 1975a. Studies on the chemical ecology of snails The effects of chemical conditioning by adult snails on the growth of juvenile snails of the same species *Journal of Animal Ecology* **44**: 1-27.

Thomas J.D., Lough A.S & Lodge R.W., 1975b The chemical ecology of *Biomphalaria glabrata* (Say), the snail host of *Schistosoma mansoni* sambon. the search for factors in media conditioned by snails which inhibit their growth and reproduction. *Journal of Applied Ecology* **12**: 421-436.

Turner F.M., 1927 On the effect of overcrowding on the water snails *Lymnea peregra* and *L. stagnalis Essex Naturalist* **22**: 48-57.

Wright C.A., 1960 The crowding phenomenon in laboratory colonies of freshwater snails *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **54**: 224-232.

Evaluation de la contamination par les métaux lourds chez les mytilidés: *Perna perna* (L.) et *Mytilus galloprovincialis* Lmk. des côtes marocaines

Nadia CHRAIBI [1], Abderrahman GHEIT [1], Leila BENAZZOU [1] et Abderrahim SADAK [1]

ABSTRACT

Evaluation of heavy metal contamination in mussels (*Perna perna* (L.) and *Mytilus galloprovincialis* Lmk.) from Moroccan coasts

During Summer 1998, we have sampled three natural mussel populations of *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* located on Mediterranean and Atlantic coasts The analysis was performed with I C P (Inductively Coupled Plasma) using spectrophotometer of argon plasma Using this method, we have analysed heavy metal concentration in shell and flesh for two classes of length [1–3 cm] and [4–6 cm] The bio-accumulation shows differences in heavy metal levels between the two classes in both shell and flesh of *Mytilus* and *Perna*. It appears from this study, that young *Perna* and *Mytilus* are more sensitive to the heavy metal bio accumulation than adults mussels However, the highest metal levels are recorded near localities receiving sewage, so that natural mussel beds are of poor quality due to the impact of polluted water.

RÉSUMÉ

Au cours de l'été 1998, nous avons échantillonné trois populations naturelles de *Perna perna* et de *Mytilus galloprovincialis* en Méditerranée occidentale et sur la côte Atlantique du Maroc L'analyse a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre d'émission à générateur inductif de plasma d'argon. (I C P). Cette méthode d'analyse a porté sur deux classes de longueurs de coquilles pour les deux populations de Mytilidés étudiées: [1–3 cm] et [4–6 cm]. L'accumulation des métaux lourds montre, pour certains d'entre eux, des concentrations différentes entre les échantillons de coquilles et de chairs de *Perna perna* et de *Mytilus galloprovincialis*. Il apparaît dans cette étude que les jeunes individus de *Perna* et *Mytilus* sont plus sensibles à la bio-accumulation que les individus adultes. Cependant, les niveaux de concentrations métalliques les plus remarquables sont enregistrés à proximité des stations fortement polluées au niveau desquelles les moulières naturelles sont de qualité médiocre, et ceci, suite à l'impact toxicologique des eaux usées

1 Laboratoire de Zoologie et de Biologie Animale, Groupe de Recherches en Ecologie Marine (G R E M), Faculté des Sciences de Rabat, Avenue Ibn-Battouta, BP 1014 , Rabat Maroc e-mail <Nchraibi@ fsr.ac.ma>

INTRODUCTION

De par sa situation géographique particulière, le Maroc représente «un continent carrefour», entre l'Europe et l'Afrique à la croisée duquel la rencontre de deux milieux marins, par l'intermédiaire du Détroit de Gibraltar, est le siège d'interactions diverses entre certains groupes faunistiques taxonomiquement proches. L'existence du détroit favorise l'élargissement des aires de répartition géographique de nombreux taxons, au delà de leurs sites naturels d'origine. C'est le cas de la faune malacologique marocaine, en particulier, celle des Mytilidés, où deux genres *Perna* et *Mytilus* cohabitent très souvent dans leurs sites naturels d'origine, à des niveaux d'abondance très divers, entrant ainsi en compétition au niveau de certaines zones intertidales des côtes marocaines. Ainsi, la moule africaine: *Perna perna* (Linné, 1758) est signalée en Méditerranée dans la Baie d'Alger par Asso (1980) et en Tunisie dans la région de Bizerte par Zaouali (1973) alors que ce genre, d'origine afro-tropicale, est nettement abondant dans la partie méridionale du littoral atlantique marocain. De même, la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincalis* Lamarck, 1819, très localisée en Méditerranée étend sur la côte atlantique marocaine son aire de répartition, puisque jusqu'à ce jour on l'a récoltée à Tan-Tan (province sud du Sahara marocain). De ce fait, on observe actuellement une «remontée» des populations naturelles de *Perna* vers la zone septentrionale, et une «invasion» remarquable des populations de *Mytilus* vers la zone afro-tropicale; ceci étant particulièrement visible dans la plupart des moulières naturelles peuplant certaines zones infralittorales superficielles atlantique et méditerranéenne du Maroc.

D'autre part, les Mollusques Bivalves représentent, pour les écosystèmes côtiers, un matériel de choix dans le diagnostic des traces de contaminations métalliques (Bryan, 1973; Sidoumou *et al.,* 1999; Amiard et Berthet, 1996). En particulier, les mytilidés sont considérés, du fait de leur mode de vie fixée et sédentaire, comme espèces «sentunelles» fiables dans les études de monitoring· Goldberg *et al.* (1978), UNEP/FAO/IOC/IAEA (1994). Cependant, si la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincalis* a fait l'objet de nombreux travaux éco toxicologiques, en revanche, la moule africaine *Perna perna* a été peu étudiée; celle ci étant peu répandue sur le pourtour méditerranéen où elle forme des populations très peu localisées et éparses (Asso, 1980; Abada Boudjema *et al.,* 1984; Zaouali,1973). Il semble que ces populations élargissent leurs aires de répartition de plus en plus vers les côtes méditerranéennes orientales, du fait que la mer méditerranée présente aujourd'hui des conditions écologiques proches de celles d'une «tropicalisation» de la méditerranée.

Sur la côte nord atlantique, les seuls travaux ayant trait au genre *Perna* sont ceux de Shafee (1989, 1992) sur la reproduction et le recrutement de *Perna picta* (Born) [=*Perna perna*] et ceux de Najimi (1997), l'écotoxicologie étant une discipline récente en Afrique du Nord. Du fait de la pression croissante de toutes les formes de pollutions, des articles font état de traces de contamination métallique enregistrées dans des populations naturelles de Mollusques Bivalves (Tableau 4): en Mauritanie par Sidoumou *et al.* (1999), au Maroc par El Hraki *et al.* (1994), Chafai (1994), Kaimoussi (1996), Sabhi (1997), Najimi (1997) et en Algérie par Asso (1984).

Toutefois, il faut signaler qu'au Maroc aucune étude écotoxicologique des populations naturelles de *Perna perna* (Linné.) et de *Perna picta* (Born.) n'a été entreprise à ce jour, d'où l'intérêt de cette contribution qui se fixe pour objectif la mise en évidence de concentrations différentes entre deux classes d'individus: des juvéniles de classe [1 3 cm] et des adultes de classe [4–6 cm]

aussi bien au niveau des chairs qu'au niveau des coquilles chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis*; ces deux espèces cohabitant dans les mêmes sites infralittoraux atlantique et méditerranéen du Maroc, alors que *Perna picta* se cantonne dans des zones infralittorales «battues» profondes, et qui sont difficilement accessibles.

Description des stations

En vue d'une étude éco-toxicologique comparative, un échantillonnage de trois moulières naturelles (Fig. 1), peuplées conjointement par *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis*, a été entrepris dans deux sites côtiers atlantiques dont un fortement insalubre et une station choisie à l'extrême ouest de la côte méditerranéenne occidentale, soumise à des rejets d'hydrocarbures portuaires et d'eaux usées urbaines, et par conséquent, présente des signes de pollution.

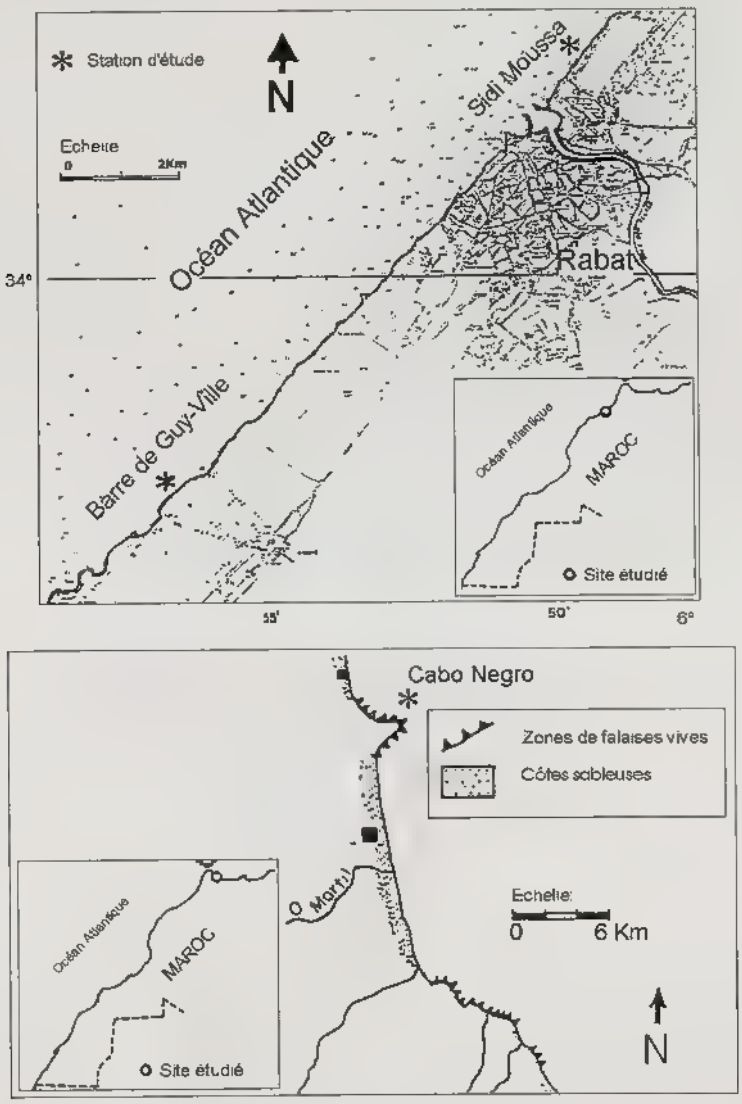


Figure 1. Localisation géographique des sites échantillonnés. a. Stations atlantiques (Guy-Ville et Sidi-Moussa); b: Station méditerranéenne (Cabo Negro).

* La barre de Guy-Ville (Atlantique): cette station située à 10 kms au sud de Rabat fait partie d'un ensemble de structures tabulaires gréso-calcaires de la côte atlantique formant par endroits de véritables barres rocheuses. Du point de vue géomorphologie ces falaises consolidées sont récentes (âge quaternaire) et ont fait l'objet de travaux décrits par Gantès (1967). Ce site est considéré comme faiblement pollué car l'impact anthropique est peu marqué, sauf en été par la présence des estivants associée à l'existence de fosses septiques des chalets avoisinants le site étudié, lesquelles par infiltration atteignent vraisemblablement les sédiments côtiers. Néanmoins, seule une analyse de la contamination métallique de ces sédiments peut confirmer cette hypothèse.

* Le platier de Sidi Moussa (Atlantique): situé à proximité de l'embouchure de l'Oued Bou-Regreg, cette station est représentée par une plateforme de nature calcaire: calcarénite d'âge quaternaire qui fait partie de l'étage infralittoral (Lecointre,1963; Cirac *et al* 1979). Ce platier est délimité au sud par une digue qui le sépare de la plage de Salé. Le caractère insalubre de cette station est dû au déversement quotidien des eaux usées domestiques par l'émissaire principal de la ville de Salé et dont les apports en matières organiques et en substances toxiques font qu'au niveau de ce site se développent d'abondantes moulières naturelles à *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis*. Au moment de l'étale, ce platier est soumis à la fois à une forte salure combinée à une température élevée de la faible couche d'eau, qui imprègnent fortement les eaux usées urbaines qui pourraient influencer les concentrations des métaux lourds présents, particulièrement au printemps et en été.

* Le récif de Cabo-Negro (Méditerranée): situé à l'ouest de la station balnéaire de Cabo-Négro, ce récif fait partie d'un ensemble de falaises vives très avancées formant de belles criques, telles la station balnéaire de Cabo-Negro, qui isolent la localité de M'diq de celle de Martil. Le récif prospecté est composé de roches schisto gréseuses appartenant au domaine du Rif interne (Chalaouan,1986). De forme quadrangulaire, ce récif, distant de quelques mètres des falaises, abrite une faune invertébrée «associée» aux moulières naturelles dont la richesse spécifique est remarquablement diversifiée. L'absence de stations d'épuration des eaux usées, en provenance de la station balnéaire (Cabo-Negro) et du village de M'diq en plus de ses activités portuaires (présence d'hydrocarbures), font que cette station montre des signes de pollution qui se refléteraient sur la bio-accumulation métallique au sein de la moulière étudiée.

MATERIEL ET METHODES

L'échantillonnage est effectué aux marées basses de vives eaux, au niveau de la zone intertidale. Des lots de chaque espèce sont prélevés grossièrement à la main sur les sites naturels, nettoyés à l'eau de mer et débarrassés de toutes les impuretés. Les échantillons sont placés dans des sachets en plastique contenant de l'eau de mer fraîche pour permettre une purge éventuelle de quelques heures. Au laboratoire, les individus des populations de *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* sont triés et mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. Les échantillons sont sélectionnés par classe de longueur de coquilles de telle sorte que seulement 2 classes ont été retenues pour cette étude: les juvéniles [1–3 cm] et les individus âgés [4–6 cm]. Ainsi, 120 individus (n= 120) sont sélectionnés pour la classe [1 3 cm] et 60 autres (n= 60) pour la classe [4–6 cm]; et cela pour chaque station et chaque espèce. Les différents sachets d'échantillons sont étiquetés (nom de la station, date et espèce) et mis au congélateur à - 20°C. Par la suite, la

décongélation est réalisée sous hotte à flux laminaire; les moules étant débarrassées de leurs coquilles qui sont mises de côté pour leurs analyses spécifiques. La chair totale extraite est pesée, soit environ 200 g de matière fraîche pour chaque espèce et par station. Celle-ci est lyophilisée (étuve à 70°C durant 48 heures) puis pulvérisée à l'aide d'un mortier en porcelaine jusqu'à obtention d'une poudre fine d'environ 10 grammes. les coquilles triées par classe de longueur sont nettoyées à l'aide d'une brosse en nylon puis rincées à l'eau distillée. Les échantillons des deux classes de coquilles de *Perna* et *Mytilus* sont essuyés à l'aide de papier Joseph, séchés quelques heures à l'air ambiant, pesés (environ 200g par espèce et par station) puis pulvérisés jusqu'à obtention de 10 grammes de poudre fine. Pour chaque espèce, des fractions aliquotées de 2 grammes de poudre fine, obtenues séparément à partir des chairs et des coquilles des différentes stations, sont mises respectivement à digérer, par attaque d'un mélange HCL concentré à 25 % (Suprapur, MERCK) et HNO_3 concentré à 10 % (Suprapur, MERCK) dans des béchers en téflon fermés hermétiquement et chauffés à 150°C sur plaque chauffante pendant 3 heures. Après refroidissement, les minéralisats sont jaugés à l'eau distillée dans des fioles de 100 ml. Les minéralisats ainsi obtenus sont filtrés, dilués à l'eau bidistillée puis stockés dans des flacons en polyéthylène stériles à 4°C pour analyse. Le dosage des métaux lourds est effectué par I C P (Inductively Coupled Plasma) grâce à un spectrophotomètre d'émission à torche plasma type THERMO-JARRELL Ash, modèle IRIS/AP - N° d'identification: ICP/180/1

Les solutions standards qui servent à étalonner le spectrophotomètre à torche plasma sont de marque BDH Chemical Ltd. Ainsi, pour chaque métal analysé, un blanc standard et trois matrices biologiques de références certifiées (DORM-1/NRCC; MA-A-2/TM/ IAEA; MA B 3/TM; IAEA 350/ IAEA) sont utilisés comme matériaux de contrôle pour chaque série de mesures (Tableau 1). Par ailleurs, pour éviter toute contamination possible entre les échantillons, des précautions sont prises conformément au protocole A Q C S: Analytical Quality Control Service (AIEA, 1995). Seul le mercure a été analysé à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique type Perkin Elmer 2380 équipé d'un système d'hydrures MHS 10 pour le dosage du mercure total, conformément aux recommandations fournies par UNEP/FAO/IAEA/IOC (1984).

Tableau 1 Matrices de références certifiées ayant servi au contrôle de la conformité des analyses des métaux traces (Cd, Pb, Cr, Ni, Zn et Cu) dans les chairs

µg/g	Cd	Pb	Cr	Ni	Zn	Cu
DORM-1/NRCC	0 086 ± 0.012	0.4 ± 0.07	—	—	21.3 ± 1.0	5.22 ± 0.33
MA-A-2/TM/IAEA	.066 ± 0.004	0.58 ± 0.07	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1	33 ± 1.0	3 9 ± 0.1

RESULTATS ET COMMENTAIRE

Les valeurs des matrices de référence certifiées (Tableau 1) sont différentes des teneurs moyennes détectées dans nos populations naturelles (Tableaux 2 et 3). En effet, les concentrations des métaux essentiels (Zn, Cu, Mn) et non essentiels (Cd, Pb, Hg) enregistrées en période estivale sont élevées. Ces fortes teneurs confirmeraient qu'à l'approche de la période de

repos sexuel, l'intense activité métabolique (accumulation de réserves) provoquerait un stockage des polluants chimiques présents dans le milieu. A cela s'ajouterait les interactions entre éléments (Zn et Cd par exemple) qui sont sous la dépendance des conditions abiotiques du milieu (température, salinité, pH) variables selon les saisons.

Tableau 2. Analyse de quelques métaux lourds chez *Perna perna* (P) et *Mytilus galloprovincialis* (M), Classe. [1–3 cm] par spectrophotométrie d'émission au plasma d'argon (ICP). Concentrations métalliques moyennes (µg/g de matière sèche) décelées au cours de l'été 1998 au niveau des coquilles et des chairs.

Coquilles								
REFERENCES	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Fe
Cabo-Negro P	0.36 ± 0.1	2.8 ± 0.81	6.4 ± 3.45	2.1 ± 0.7	1.5 ± 0.92	0.2 ± 0.04	15.4 ± 3.8	216 ± 42
Cabo-Negro M	0.17 ± 0.3	1.2 ± 0.66	0.8 ± 0.17	9.6 ± 2.4	0.5 ± 0.41	0.8 ± 0.03	10.6 ± 6.2	74.6 ± 11
Sidi-Moussa P	0.18 ± 0.2	1.9 ± 0.94	5.5 ± 2.41	10.2 ± 2.2	0.8 ± 0.71	3.8 ± 0.61	20.1 ± 5.5	146 ± 33
Sidi-Moussa M	0.45 ± 0.4	3.4 ± 0.77	4.6 ± 1.20	18.2 ± 6.7	2.8 ± 1.33	4.3 ± 0.38	26 ± 8.9	120 ± 29
Guy-Ville P	0.34 ± 0.2	2.8 ± 0.48	2.8 ± 1.32	5.1 ± 1.9	4.1 ± 1.88	1.9 ± 0.47	10.2 ± 3.4	118 ± 16
Guy-Ville M	0.33 ± 0.5	4.1 ± 1.33	1.8 ± 0.47	4.8 ± 1.7	2.3 ± 1.06	3.2 ± 0.72	10.7 ± 2.6	98 ± 12

Chairs								
REFERENCES	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Hg
Cabo-Negro P	0.88 ± 0.6	0.95 ± 0.6	10.7 ± 2.6	28.4 ± 7.1	4.2 ± 2.11	1.7 ± 0.32	233 ± 19	0.12 ± 0.01
Cabo-Negro M	0.75 ± 0.5	0.26 ± 0.3	11.3 ± 8.3	30.1 ± 10	2.0 ± 0.90	1.4 ± 0.29	254 ± 48	0.09 ± 0.03
Sidi-Moussa P	0.68 ± 0.3	1.85 ± 0.8	12.5 ± 4.3	27.1 ± 9.3	4.7 ± 3.93	2.7 ± 0.88	245 ± 61	0.38 ± 0.01
Sidi-Moussa M	1.21 ± 0.4	1.12 ± 0.9	11.4 ± 5.4	25.6 ± 7.3	3.1 ± 2.80	3.2 ± 0.91	321 ± 38	0.66 ± 0.05
Guy-Ville P	0.42 ± 0.5	0.78 ± 0.5	8.6 ± 1.05	18.9 ± 8.8	4.9 ± 1.92	1.1 ± 0.40	151 ± 52	0.15 ± 0.05
Guy-Ville M	0.57 ± 0.2	0.66 ± 0.4	7.8 ± 4.1	20.2 ± 6.4	4.2 ± 1.5	0.8 ± 0.29	186 ± 28	0.43 ± 0.04

Tableau 3 Analyse de quelques métaux lourds chez *Perna perna* (P) et *Mytilus galloprovincialis* (M), Classe: [4–6 cm] par spectrophotométrie d'émission au plasma d'argon (ICP) Concentrations métalliques moyennes (µg/g de matière sèche) décelées au cours de l'été 1998 dans les coquilles et les chairs.

Coquilles								
REFERENCES	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Fe
Cabo-Negro P	0.33 ± 0.7	2.5 ± 0.31	7.2 ± 2.04	2.5 ± 1.1	1.9 ± 0.71	0.6 ± 0.25	16.4 ± 4.5	416 ± 59
Cabo-Negro M	0.07 ± 0.1	3.8 ± 0.80	1.9 ± 1.70	11.5 ± 5.5	0.8 ± 0.22	1.6 ± 0.12	11.9 ± 3.7	94.6 ± 26
Sidi-Moussa P	0.13 ± 0.4	1.8 ± 0.72	8.5 ± 0.60	11.1 ± 4.1	1.1 ± 0.88	5.4 ± 0.66	19.4 ± 7.2	867 ± 76
Sidi-Moussa M	0.29 ± 0.2	6.6 ± 1.41	6.2 ± 0.51	19.3 ± 6.3	3.7 ± 1.51	6.7 ± 2.13	23.8 ± 10	586 ± 68
Guy-Ville P	0.63 ± 0.3	3.7 ± 0.91	4.9 ± 0.78	6.6 ± 2.7	4.6 ± 0.85	2.4 ± 0.92	9.5 ± 3.1	98 ± 23
Guy-Ville M	0.42 ± 0.5	4.3 ± 1.24	2.9 ± 1.7	5.2 ± 1.3	2.9 ± 1.37	4.4 ± 0.76	8.6 ± 3.5	218 ± 47

Chairs								
REFERENCES	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Hg
Cabo-Negro P	0.81 ± 0.9	1.76 ± 0.4	9.8 ± 4.1	17.4 ± 5.9	7.2 ± 4.46	1.1 ± 0.28	178 ± 27	0.27 ± 0.07
Cabo-Negro M	0.93 ± 0.3	0.55 ± 0.8	8.1 ± 3.1	14.6 ± 4.4	2.5 ± 1.81	0.7 ± 0.42	186 ± 31	0.16 ± 0.04
Sidi-Moussa P	1.82 ± 1.1	2.68 ± 1.6	11.2 ± 9	16.3 ± 6.1	4.5 ± 1.22	2.1 ± 0.20	205 ± 21	0.44 ± 0.09
Sidi-Moussa M	1.29 ± 1.6	1.35 ± 0.6	10.8 ± 2.4	15.2 ± 4.2	3.5 ± 1.67	2.8 ± 0.81	211 ± 45	0.98 ± 0.08
Guy-Ville P	0.44 ± 0.2	0.98 ± 0.5	8.4 ± 2.5	15.6 ± 3.8	5.8 ± 5.01	1.8 ± 0.35	121 ± 40	0.33 ± 0.07
Guy-Ville M	0.69 ± 0.3	0.45 ± 0.7	7.3 ± 3.5	12.8 ± 2.3	4.6 ± 2.15	0.9 ± 0.44	179 ± 38	0.56 ± 0.05

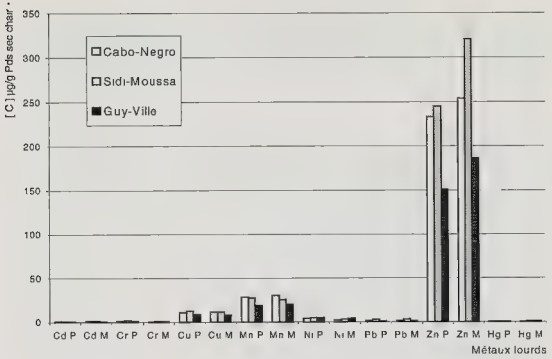


Figure 2 Concentrations métalliques (poids sec) dans les chairs de *Perna* (P) et de *Mytilus* (M): classe [1–3 cm].

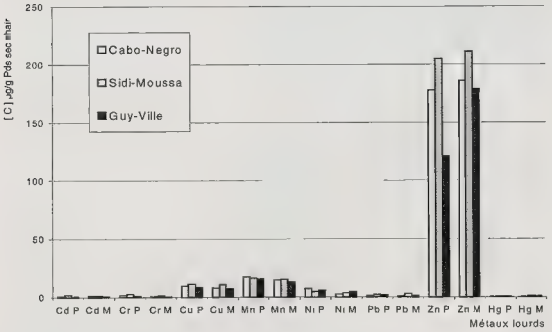


Figure 3 Concentrations métalliques (poids sec) dans les chairs de *Perna* (P) et de *Mytilus* (M): classe [4–6 cm].

Bien que nous ayons obtenu 18 valeurs de concentrations globales grâce au spectrophotomètre à torche plasma, plus celle du mercure obtenue au spectrophotomètre d'absorption atomique, soit 19 valeurs, nous avons retenu 8 métaux traces (Cd, Cr, Cu, Fe, Zn, Mn, Ni, Pb) pour les coquilles et 8 éléments métalliques (Cd, Cr, Cu, Zn, Mn, Ni, Pb, Hg) pour les chairs, les plus utilisés en éco toxicologie et cela pour permettre une comparaison avec d'autres chercheurs.

Analyse des chairs

A la lecture des tableaux 2 et 3 et des histogrammes (Figs 2 et 3), on remarque que les deux classes de populations de *Perna perna* montrent, au niveau de la chair, une bio accumulation métallique plus importante que celle observée dans les classes de populations de *Mytilus galloprovincialis* avec une prédominance pour les éléments traces Zn, Cu, Mn, Ni. Les valeurs les plus remarquables sont enregistrées, en premier lieu à Cabo Negro (station méditerranéenne) puis à Sidi-Moussa (station atlantique): en effet, dans ces deux sites, les teneurs métalliques enregistrées durant l'été 1998 montrent que tous les individus appartenant à la classe [1–3 cm] sont plus «bio- accumulateurs» que ceux plus âgés de la classe [4–6 cm] ce qui laisse supposer que les stades juvéniles seraient plus sensibles à une bio-accumulation des polluants métalliques, compte tenu de leur forte activité métabolique durant leur période de croissance; le cuivre, par exemple, représente pour les moulières un élément vital associé à leur fonction respiratoire. Toutefois, il faut remarquer que les valeurs remarquables obtenues, quelles que soient les longueurs de classes considérées, sont enregistrées à proximité des stations insalubres au niveau desquelles sont déversées quotidiennement des eaux usées urbaines en l'absence de station de traitement. Etant donné le fort pouvoir de filtration et le régime microphage associés au mode de vie fixée des mytilidés, de telles valeurs ne surprennent pas mais demeurent inquiétantes car il est connu que des taux élevés de cuivre et de zinc peuvent provoquer au niveau des naissains de certains mollusques des anomaliestelles des déformations de la coquille signalées par Martin *et al* (1981), une inhibition de l'activité ciliaire des branchies (Chafai, 1994). Cependant, à ce jour les teneurs décelées sont faibles (sauf pour celles du zinc) pour soulever un problème quelconque de contamination. Il faut cependant noter, qu'au moment du prélèvement, en période estivale les températures de l'eau des zones intertidales avoisinent et dépassent parfois les 22°C au moment de l'étale, ce qui peut influencer les variations des teneurs toxiques des matières en suspension des eaux usées provenant des collecteurs situés à proximité du récif de Cabo-Negro et du platier de Sidi Moussa ; phénomène signalé par Widdows et Donkin (1992). Des résultats similaires ont été enregistrés sur la côte algérienne en milieu lagunaire par Boudjellal *et al* (1998) dont l'étude a porté sur 3 lots de *Mytilus galloprovincialis* de tailles différentes: ces auteurs ont constaté que le phénomène de bio-accumulation est inversement proportionnel à la croissance des individus: ainsi, les classes de moules [3–4 cm] montrent des teneurs plus importantes que les individus de taille comprise entre [5 6 cm]; ces résultats enregistrés en milieu «fermé» (lagunaire) corroborent ceux que nous avons observé, dans cette étude, en milieux «ouverts» (atlantique et méditerranéen). On remarque, d'autre part pour les deux classes étudiées, des concentrations de zinc comprises entre 120 µg/g et 320 µg/g de poids sec avec des valeurs extrêmes enregistrées dans les moulières à *Mytilus galloprovincialis*. Ces résultats confirment les observations de Amiard et Berthet (1996) selon lesquelles il existe une influence de l'âge sur les concentrations en zinc chez l'huître *Crassoostrea gigas*. Par ailleurs, les travaux de Amiard-Triquet et Amiard (1998) ont montré

que des concentrations élevées en zinc exercent un effet antagoniste (interaction entre polluants chimiques) sur celles du cadmium; celui-ci interviendrait, d'après Viarengo *et al.* (1999) dans certaines fonctions physiologiques en se substituant au zinc. D'autre part, cette étude a été réalisée en période estivale (été 1998) qui correspond au début de la phase de repos sexuel des mytilidés (Shafee, 1992) celle-ci se traduisant par une accumulation croissante en réserves qui, parallèlement, s'accompagne d'un stockage en métaux lourds présents sous différentes formes (sulfites par exemple) dans le milieu.

Nous avons comparé nos résultats à d'autres valeurs signalées ailleurs sur la côte nord atlantique et la côte méditerranéenne occidentale (Tableau 5). Il apparaît, au vu de nos résultats ainsi que ceux d'autres chercheurs marocains (Chafai, 1994, Kaimoussi, 1996 et Najimi, 1997) que le littoral atlantique marocain héberge des populations naturelles de mytilidés dont les chairs sont fortement contaminées en zinc et en cuivre par rapport à celles signalées sur les côtes atlantiques françaises par Boutier (1982) et Métayer et *al.* (1985). En effet, les sources communes du zinc et du cuivre sont les sulfites, principaux produits miniers qui sont associés aux sulfites des autres métaux tels le cadmium, le plomb et le fer. La carte dressée par WHO/UNEP (1995) montre que l'Afrique du Nord et la péninsule Ibérique sont le siège de grandes exploitations minières dont les apports, par le drainage fluvial, contribuent en partie à la contamination des faunes invertébrée et vertébrée marines côtières: en particulier, les fortes teneurs en plomb et en zinc signalées en Méditerranée orientale (Grèce, Turquie) ne surprennent pas étant donné la forte pression anthropique existante au travers des activités portuaires et industrielles intenses (Bei et al., 1998, Tuncer et al., 1982; Uysal *et al.*, 1986; Ozdemir et al., 1998). Par ailleurs, au niveau des concentrations du nickel et du cuivre (Tableaux 2 et 3), seules les populations naturelles à *Perna perna* montrent des valeurs élevées, dans les deux classes étudiées, par rapport à celles enregistrées dans les populations de *Mytilus galloprovincialis*. Les concentrations les plus fortes sont décelées à Sidi-Moussa et Cabo-Negro, qui sont des sites insalubres, et par suite, traduisent également les interactions entre polluants chimiques, interactions produites par l'apport des eaux usées urbaines. Il semblerait que dans ces deux stations, la faible amplitude du marnage à Cabo-Negro et la structure en platier de Sidi-Moussa contribuent au phénomène de bioaccumulation métallique, alors que la structure en mode battu observée dans la barre de Guy-Ville favoriserait la dispersion des éléments traces, compte de l'importance de l'hydrodynamisme atlantique.

Analyse des coquilles

Les données des tableaux 2 et 3 et les figures 4 et 5 montrent que les concentrations métalliques augmentent sensiblement avec la croissance des individus, puisque l'on constate une élévation proportionnelle des teneurs métalliques entre les individus des classes [1—3 cm] et [4—6 cm] et ceci particulièrement au niveau des stations fortement insalubres, en particulier celles de Sidi-Moussa et Cabo-Negro. Les résultats obtenus montrent que ces deux stations présentent des niveaux élevés en polluants métalliques, ce qui n'est pas le cas pour la station de Guy-Ville où tous les éléments traces montrent des valeurs comparativement faibles par rapport à celles enregistrées chez *Perna* et *Mytilus* dans les deux autres stations. Si on compare les résultats que nous avons obtenu pour *Mytilus galloprovencialis* avec ceux trouvés en Mer Tyrrhénienne par Regoli *et al.* (1995) (Tableau 4), nous remarquons que les valeurs en poids secs des coquilles, enregistrées

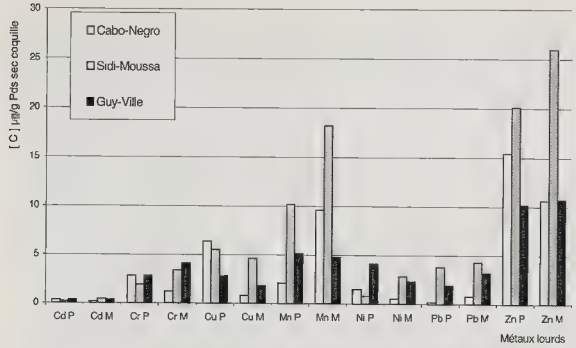


Figure 4 Concentrations métalliques (poids sec) dans les coquilles de *Perna* (P) et de *Mytilus* (M) classe [1–3 cm].

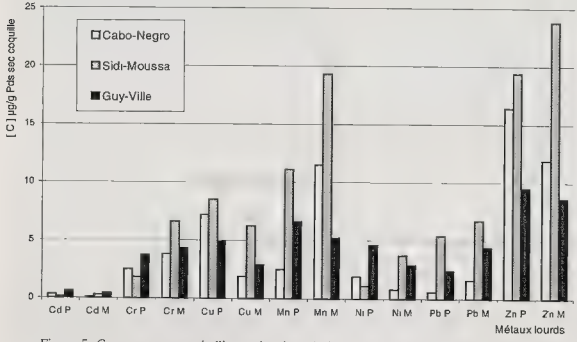


Figure 5. Concentrations métalliques (poids sec) dans les coquilles de *Perna* (P) et de *Mytilus* (M): classe [4–6 cm].

sur le littoral atlantique à Guy-Ville et surtout à Sidi-Moussa ainsi que sur le site méditerranéen à Cabo Negro sont élevées en ce qui concerne le fer, le cuivre et surtout le zinc par rapport à celles trouvées à Scarlino et la Spezia (Italie), alors que celles concernant le plomb sont excessivement élevées à Scarlino (16,6 µg/g de poids sec) consécutivement à l'impact des pollutions dans cette zone. Toutefois, nos résultats corroborent ceux de Regoli *et al* (1995) à propos de l'influence de la taille (donc de l'âge) des individus sur la concentration des métaux traces. D'après Sabhi (1997) et les rapports établis par UNEP/WHO (1995), les apports les plus remarquables en plomb entrent en Méditerranée par la mer Adriatique suivis de ceux arrivant par la mer Tyrrhénienne et la mer Egée; ces deux dernières recevant plus de 14% des apports totaux en plomb dus en grande partie au drainage fluvial. Par ailleurs les fortes concentrations en zinc et en cuivre enregistrées à Cabo-Negro seraient dues également aux apports en sulfites en provenances de l'exploitation de mines de cuivre et de zinc. Selon les rapports établis par UNEP/FAO/WHO (1989), les estimations des apports en cuivre et zinc à travers le Détroit de Gibraltar sont respectivement de l'ordre de 9200 tonnes Cu/an et 23500 tonnes Zn/an.

De la même manière, on remarque à titre comparatif (Tableau 4) que les populations de *Perna perna* présentent des coquilles à fortes teneurs en cuivre, en zinc et surtout en fer particulièrement à Sidi Moussa (506 5 µg/g) par rapport aux autres moulières naturelles de *Mytilus galloprovincialis* en Mer Tyrrhénienne et/ou celles des milieux côtiers atlantique marocains (Tableau 4). Une étude approfondie sur la bioaccumulation au niveau des coquilles de *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* peuvent être d'un grand apport pour l'évaluation des effets éco toxicologiques des polluants chimiques sur la faune malacologique infralittorale marocaine. En effet, compte tenu des résultats préliminaires obtenus, il semblerait que les populations marocaines de *Perna perna* présentent une grande capacité à accumuler les polluants chimiques et, de ce fait, peuvent faire l'objet d'une étude de «*monitoring*». Cette forte tolérance à la contamination métallique enregistrée dans les populations naturelles du genre *Perna* serait en liaison avec leur croissance plus rapide que celle de *Mytilus galloprovincialis* (Shafee, 1992). Selon cet auteur, le genre *Perna* peut atteindre 40 à 70 mm en moins de 6 mois à des latitudes légèrement élevées (Algérie, Maroc, Nouvelle-Zélande) et des croissances très rapides en régions tropicales et subtropicales.

Tableau 4 Valeurs moyennes (µg/g) des métaux lourds enregistrés au niveau des coquilles entières de *Mytilus galloprovincialis* (*) et *Perna perna* (**) en Méditerranée nord occidentale et en Atlantique nord

	Mn	Fe	Pb	Cu	Zn	Références
Scarlino (Mer Tyrrhenienne) *	27.0	3.58	16.6	1.44	0.94	Regoli et al. 1995
La Spezia (Mer Tyrrhenienne) *	6.08	2.30	< 0.5	1.50	0.55	
Cabo-Negro (Mediterranée occidentale) *	10.55	84.6	1.20	1.35	11.25	Nos résultats
Cabo-Negro (Mediterranée occidentale) **	2.3	316	0.4	6.8	15.9	
Sidi-Moussa (Atlantique) *	18.75	353	5.50	5.40	24.9	
Sidi-Moussa (Atlantique) **	10.65	506.5	4.6	7.0	19 75	
Guy-Ville (Atlantique) *	5.0	158	3.80	2.35	9.65	
Guy-Ville (Atlantique) **	5.85	108	2.15	6.65	9.85	

Tableau 5 Variations de quelques métaux lourds (µg/g poids sec) signalées sur les côtes méditerranéennes et atlantiques dans des moulières naturelles à *Mytilus galloprovincialis* (*), *Mytilus edulis* (**) et *Perna perna* (**). n.e. = non étudié. n.d. = non décelé.

	Pb	Cd	Cu	Zn	Hg	Références
Côte Espagnole *	0.10 – 50	0.10 – 2.0	1.40 – 3.00	20 – 67	n. e.	Rodriguez et al., 1995
Côte Egéenne (Grèce) *	4.69 – 6.14	n. e.	4.68 – 8.27	n. e.	n. e.	Bei et al.; 1998
Baie d'Izmir (Turquie) *	1 10 - 1.36	0.17 – 1.10	1.03 – 6.92	10.6 – 279 9	n. e.	Tuncer et al, 1982
Lagon de Homa fisheries (Turquie) *	0.62 – 1 70	0.32 – 2 3	0 32 – 2.30	9.55 – 26.05	n. e	Ozdemir et al, 1998
Côte Marocaine (Méditerranée occidentale) *	0 12 – 0.46	0 09 – 0 43	0.80 – 2 00	11.7 – 23.5	0.03 – 0 016	Sadhi, 1997
Cabo-Negro (Méditerranée occidentale) *	0.7 – 1.4	0.75 – 0.93	8.1 – 11.3	186 – 254	0.09 – 0.16	Nos résultats
Cabo-Negro (Méditerranée occidentale) **	1.1---1.7	0.81---0.88	9.8---10.7	178 – 233	0 12 – 0.27	
Baie d'Alger **	1.07 – 6.31	0.14 – 1.26	2.35 – 13.1	26 6 – 200	0.07 – 0.50	Asso, 1984
Côte Atlantique Française ***	n. e.	0.5 – 3.7	4.6 – 17.9	62 – 148	n. e.	Boutier, 1982
Baie de Bourgneuf (Atlantique) ***	n. e.	0.59 – 1.97	4.08 – 7.80	39.8 – 111	n. e.	Métayer et al., 1985
Sidi-Moussa (Atlantique) *	2.8 – 3.2	1.21 – 1.29	10.8 – 11.4	211 – 321	0.66 – 0.98	Nos résultats
Sidi-Moussa (Atlantique) **	2.1 – 2.7	0.88 – 1.82	11.2 – 12.5	205 – 245	0.38 – 0.44	
Guy-Ville (Atlantique) *	0.80 – 0.90	0.57 – 0 69	7.3 – 7.8	179 – 186	0.43 – 0.56	
Guy-Ville (Atlantique) **	1.1 – 1.8	0.42 – 0.44	8.4 – 8.6	121 – 151	0.15 – 0.33	
Mohamédia (Atlantique) *	n. e.	0.13 – 1.53	2.4 – 12.2	50.1 – 344	n. e.	Chafa, 1994
El-Jadida (Atlantique) *	n. e.	0.99 – 1.45	4.4 – 14.7	148 – 535	n. e.	Kaimoussi, 1996
Agadir (Atlantique) **	n. e.	0.36 – 1.52	3.59 – 6.59	64 – 130	n. d.	Najmi, 1997
Littoral mauritanien **	n. e.	0.15 – 11.4	1.50 – 8.80	21 – 62	0.02 – 0.06	Sidoumou et al., 1999

CONCLUSION

Cette étude éco-toxicologique, qui a porté sur des populations naturelles de Mytilidés (*Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna*) cohabitant par endroits, dans les milieux infralittoraux atlantique et méditerranéen marocains, a permis de tirer un certain nombre de conclusions:

* L'analyse par spectrophotométrie d'émission au plasma d'argon (ICP) montre qu'indiscutablement les tissus mous des juvéniles sont plus sensibles au phénomène de bio–accumulation; ceci, au vu des résultats enregistrés chez les deux genres de Mytilidés, aussi bien

chez *Mytilus* que chez *Perna*. Par ailleurs, cette analyse aura montré une corrélation significative entre l'accumulation des métaux lourds et l'âge des individus comme le prouvent nos résultats consignés dans les Tableaux 2 et 3, aussi bien pour les métaux essentiels (zinc, cuivre, manganèse) et non essentiels (plomb, cadmium, mercure). Ces résultats corroborent ceux trouvés en milieu lagunaire sur la côte algérienne par Boudjellal *et al* (1998).

* Le choix de trois stations, dont deux polluées: Sidi-Moussa et Cabo-Negro prouve encore une fois l'impact, non négligeable, des eaux usées sur les variations de concentrations des polluants métalliques, impact anthropique qu'il est certes difficile de mesurer mais que l'on peut constater au vu des résultats comparatifs obtenus.

* Exception faite des valeurs enregistrées à Sidi-Moussa qui est la plus polluée, le dépouillement des résultats globaux des deux populations de Mytilidés montre, à des degrés divers, des teneurs en métaux lourds sensiblement proches avec cependant une légère prédominance pour les populations de *Perna perna*. Nous pensons que ce phénomène serait lié à une croissance plus rapide observée chez *Perna perna*: en effet, certains individus, que nous avons récoltés, mesurent sur la côte atlantique marocaine entre 10 et 15 cm, ce qui confirme les observations de Shafee (1992). Afin d'homogénéiser les résultats préliminaires de cette étude, nous avons éliminé toutes les classes de *Perna* de longueur supérieure à 6 cm, qui sont caractérisées par des effectifs faibles, mais qui demeurent à notre sens intéressants pour des études bio-écologique et génétique bien spécifiques.

* Toutefois, si les coquilles s'avèrent un matériel intéressant pour une approche éco-toxicologique, on remarque au vu de cette étude, qu'au niveau des deux genres de Mytilidés, la bio-accumulation de tous les polluants chimiques est cependant mieux «exprimée» dans les tissus mous que dans les coquilles.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Dr. Marzouki A. du Laboratoire Public d'Essais et d'Etudes (L.P.E.E.) à Casablanca pour son aimable collaboration et pour nous avoir permis d'accéder à l'utilisation du spectrophotomètre d'émission au plasma d'argon afin de réaliser cette étude éco-toxicologique.

RÉFÉRENCES

Abada-Boudjema Y, Altes J et Moueza M., 1984 Croissance comparée de deux espèces de moules *Mytilus galloprovincialis* Lmk et *Perna perna* L. dans une moulière naturelle de la baie d'Alger *Haliotis* **14**: 33-38.

Amiard J C et Berthet B, 1996. Fluctuations of cadmium, copper, lead and zinc concentrations in field populations of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the Bay of Bourgneuf *Annales de l'Institut Oceanographique*, Paris, **72**: 195- 207.

Amiard-Triquet C. et Amiard J.C., 1998. Influence of ecological factors on accumulation of metals mixtures. pp. 351-386, in: *Metal metabolism in Aquatic Environments. (Langston W.J. & Bebiano M.J., eds), London, Chapman & Hall.*

Asso A., 1980. Etude des métaux lourds chez *Perna (Mytilus) perna* L (*Mytilus africanus* Chemnitz) dans la région d'Alger. *Vèmes Journées d'Etudes sur les Pollutions*, Cagliari, C.I.E.S.M. 163-168.

Asso A., 1984. Etude des teneurs globales en métaux lourds chez la moule *Perna perna* (L.) dans la région d'Alger: variations de ces teneurs en fonction de quelques paramètres biologiques *VIèmes Journées d'Etudes sur les Pollutions;* Lucerne, C.I.E.S.M.: 411- 415.

Bei F, Catsiki V.A et Stroggyloudi E., 1998 Seasonal and spatial variations of Cu, Cr, Ni and Pb concentrations in *Mytilus galloprovincialis* of Saranikos Gulf, Greece *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée* **35**(2).

Boudjellal B., Refes W, Eddalia N, Ounadi F., Benchickh S. et Azzouz M, 1998 Etude de la variabilité des teneurs en métaux lourds chez la moule *Mytilus galloprovincialis* (LMK) d'un milieu lagunaire. le lac Mellah (El Kalla /Algérie) *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée* **35**(2): 236-237.

Boutier B, 1982 Synthèse des résultats de la surveillance des micropolluants dans la matière vivante en 1979. *Bulletin du R. N .O.* **17**: 115-174.

Bryan G W, 1973 The occurrence and seasonal variation of trace metals in the scallops *Pecten maximus* (L.) and *Chlamys operularis* (L.) *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **53** 145-166.

Chafai E.A.S., 1994. *Aspects de la contamination métallique chez certains Mollusques et Poissons marins: étude environnementale (côte atlantique marocaine) et approche expérimentale.* Thèse de doctorat de troisième cycle. Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, 155 pp.

Chalouan M,. 1986. *Les nappes Ghomarides (Rif Septentrional, Maroc): un terrain varisque dans la chaine alpine.* Thèse Es-Sciences d'Etat Es-Sciences Naturelle, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 8 pl. 317 pp.

Cirac P., Faugeres J C et Gayet J, 1979 Résultats préliminaires d'une reconnaissance sédimentaire du plateau atlantique marocain. *Bulletin de l'Institut Géologique du Bassin d'Aquitaine,* Bordeaux, **25** 69- 81, 7 fig.

El Hraiki A, Alaoui M et Buhler D R., 1994 The use mussels to determine the extent of trace metal contamination along Moroccan Atlantic coast *Toxicological and Environmental Chemistry* **41** 31-37

Gantès H., 1967. Aperçu de la zonation de la côte rocheuse marocaine *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc* **47**(3-4): 317- 327.

Goldberg E.D., Bowen V T., Farrington J W Harvey G, Martin J H. Parker P L., Risebrough W Robertson W, Schneider E et Gamble E, 1978 The mussel watch. *Environmental Conservation* **5**: 101-125.

IAEA, 1995. *Intercomparison runs reference materials.* Analytical Quality Control Services. Agency's Laboratories, Seibersdorf.

Kaimoussi A, 1996 *Etude de la variabilité de l'accumulation des métaux lourds dans les différents compartiments (Sédiments- Mollusques- Algues) du littoral d'El-Jadida.* Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Université Chaib Doukkali, El- Jadida, 147 pp.

Lecointre G, 1963 Recherches sur le néogène et le quaternaire marins de la côte atlantique du Maroc. Tome III. *Notes et Mémoires du Service Géologique du Maroc* **174**: 76 p.

Martin M, Osborn K.E., Patricia B et Glickstein N, 1981. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Marine Pollution Bulletin* **10**(9). 305-308

Métayer Gamiard J.C, Amiard Triquet C et Berthet B, 1985 Facteurs biologiques et écologiques contrôlant le niveau d'éléments traces (Cd, Pb, Cu, Zn) chez les Moules et les Huîtres de la Baie de Bourgneuf. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France*, nouvelle série, **7**(2) 53-69

Najimi S., 1997 *Evaluation de l'état de santé de la baie d'Agadir: bio-accumulation métallique et réponse de deux biomarqueurs de pollution chez* Mytilus galloprovincialis *et* Perna perna. Thèse de Biologie, Faculté des Sciences, Agadir, Maroc, 170 pp.

Ozdemir E., Ugur S. et Kamaki A, 1998 Heavy metal concentrations in some molluscs and in superficial sediments from Izmir Bay (Turkey) *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée 35*(2).

Regoli F, Mauri M. & Orlando E, 1995 Trace metals in the shell of Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée* **34**. 144.

Rodriguez C., Guerrero J., Benedicto J.M & Jomet A, 1995 Spatial distribution of heavy metals in Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* from Spanish mediterranean coast *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée* **34**(1)

Sabhi Y, 1997 *Etude des tendances des polluants chimiques métalliques (Hg, Cd, Pb, Cr, Ni, Zn Cu) dans les organismes marins de la côte méditerranéenne marocaine.* Thèse de Doctorat d'Etat ès-Sciences Biologie Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fes, 220 pp.

Shafee M.S, 1989 Reproduction of *Perna picta* (Mollusca Bivalvia) from the Atlantic coast of Morocco. *Marine Ecology Progress Series* **53**: 235-245.

Shafee M S, 1992. Production estimate of mussel population *Perna picta* (Born) on the Atlantic coast of Morocco. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **163**: 183-197.

Sidoumou Z., Gnassia Barelli M., Siau Y et Roméo M., 1999 Etude des métaux lourds chez deux mollusques prélevés sur la côte mauritanienne, *Crassostrea gigas* et *Perna perna Journal de Recherche Océanographique* **24**(1): 13-18.

Tuncer S. et Yaramaz O., 1982 Etude des métaux lourds chez les Mollusques dans les différentes zones de la Baie d'Izmir (Turquie) *IV ème Journées d'études sur les pollutions*. Cannes, CIESM, 307 313.

UNEP/FAO/IAEA/COI, 1984. Sampling of selected marine organisms and sample preparation for metal analysis. *Reference Methods for Marine Pollution Studies* (7)**2**: 24 pp.

UNEP/FAO/ IOC/IAEA, 1994 Lignes directrices concernant l'utilisation des organismes marins pour la surveillance des contaminants chimiques en mer. *Méthodes de référence pour les études de la pollution marine*, **68**: 31 p.

UNEP/FAO/WHO, 1989 Assesment of the state pollution of the Mediterranean sea by cadmium and cadmium compounds. *MAP Technical Reports Series* **34**, 157 pp.

Uysal H., Tuncer S. et Yaramaz O, 1986 A comparative study of some heavy metals in common edible organisms from Aegean coast of Turkey. *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée* **30**(2): 12 -124.

Viarengo A., Canesi L.M., Mazzucotelli A. et Ponzano E., 1999. Cu, Zn and Cd content in different tissues of the Antartic scallop *Adamussium colbecki*. rôle of metallothionein in heavy metal homeostasis and detoxication. *Marine Ecology Progress Series* **95**: 163-168.

Widdows J. et Donkin D., 1992. Ecology, physiology, genetics and culture. pp 383-424 *In:* Gosling E. (Ed.) The mussel *Mytilus*: Elsevier, Amsterdam.

WHO/UNEP, 1995 *Health risks from marine pollution in the mediterranean. Implication for policy markers* Eur-Hfa -Target 20. Part 1. 255 p.

Zaouali J., 1973 Note sur la présence de *Perna perna* L. (= *Mytilus africanus* Chemnitz) dans la région de Bizerte (Tunisie) *Bulletin de l'Institut Oceanographique et de Pêche*, Salammbô, **2**(4) 637 642.

Haliotis 29: 27-41 (2000)

Société Française de Malacologie

Etude comparative de deux populations naturelles de moules *Perna perna* (L.) et *Mytilus galloprovincialis* Lmk. dans la baie d'Agadir (sud du Maroc): suivi de la croissance et de la dynamique de population

Abdellah BOUHAIMI [1], Mohamed ID HALLA [1], Abderrazak KAAYA [1], Michel MATHIEU [2] et Abdellatif MOUKRIM [1] (✉)

ABSTRACT

Comparative study of two natural populations of mussels *Perna perna* L. and *Mytilus galloprovincialis* Lmk. from Agadir bay (south of Morocco): growth and population dynamics studies

The present work focuses on the study of growth and population dynamics (density, mortality, and recruitment) of two species of mussel *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* in Agadir bay. Monthly samples were collected during two annual cycles in a reference site (Cap Ghir) and a polluted site (Anza). For the two species, all growth parameters present similar seasonal variations which are closely related to sexual events. Moreover, values of dry and wet weight, growth rates (K) and the maximal size (L_∞) are higher for *P. perna* than for *M. galloprovincialis*. They are also higher in the reference site than the polluted one. Total mortality is higher during spawning periods and summer. On the other hand, these values were more important in the polluted site. Density reaches high values (62,532 and 54,107 mussels/m²) respectively for *P. perna* and *M. galloprovincialis*) in the reference site. It varies according to species, seasons and sites. Recruitment occurs along the year with high intensity after spawning periods.

RESUME

Cette étude comparative de la croissance et la dynamique de population (densité, mortalité et recrutement) chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis*, a eu lieu dans deux sites représentatifs de la baie

[1] Laboratoire "Eaux et Environnement", Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibnou Zohr B P. 28/S, Agadir, Maroc

[2] Laboratoire de Biologie et Biotechnologie Marines, Université de Caen, France

d'Agadir (Sud du Maroc)· Cap Ghir (site de référence) et Anza (site pollué). Des prélèvements mensuels ont été réalisés durant deux cycles annuels. Les résultats montrent que les deux espèces cohabitent dans les trois niveaux du médiolittoral avec prédominance de *M. galloprovincialis* dans le médiolittoral supérieur et de *P. perna* dans le médiolittoral inférieur. Les différents paramètres de croissance montrent des variations saisonnières comparables chez les deux espèces; la différence réside dans l'amplitude. Ces variations sont en étroite relation avec les différentes phases du cycle de reproduction. Par ailleurs, les poids sec et frais sont plus importants chez *P. perna* que chez *M. galloprovincialis*. Il en est de même pour le taux de croissance (K) et la taille maximale atteinte (L_∞), déterminés à partir l'équation de von Bertalanffy (respectivement 0,645 et 97,4 mm pour *P. perna* et 0,587 et 85,1 mm pour *M. galloprovincialis*). Ces derniers paramètres sont également plus importants chez les animaux du Cap Ghir que chez ceux d'Anza. La mortalité totale, plus importante pendant la période de ponte et en été, est plus prononcée chez les animaux du site pollué. Les densités sont très élevées (62 532 ind/m² et 54 107 ind/m² respectivement pour *P. perna* et *M. galloprovincialis*) dans la station de référence. Ces densités varient en fonction de l'espèce, de la saison et du site. Chez les deux espèces, le recrutement a lieu durant toute l'année. Il est plus intense entre janvier et mai, et faible en été (juillet-août).

INTRODUCTION

Les côtes sud-atlantiques marocaines hébergent deux espèces de moules: *Perna perna* (Linné, 1758) (moule africaine) et *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 (moule méditerranéenne). Actuellement, ces deux mollusques sont fortement exploités par la population locale (Id Halla, 1997) et feront l'objet d'un essai de mytiliculture dans la région d'Agadir (Berraho, 1998), qui constituera un projet pilote au Maroc.

Plusieurs recherches dans notre laboratoire ont porté sur ces deux mollusques (Najimi *et al.*, 1997; Id Halla *et al.*, 1997; Kaaya *et al.*, 1999; Moukrim *et al.*, 2000). L'étude de la reproduction (Id Halla *et al.*, 1997) a montré que les deux bivalves présentent des cycles sexuels synchrones qui s'étalent sur toute l'année avec une période de ponte principale au printemps. L'étude de l'évolution des réserves soutenant la reproduction, a montré que *P. perna* présente un seul type de cellules intervenant dans les phénomènes de stockage (cellules vésiculeuses ou cellules à glycogène); alors que *Mytilus galloprovincialis* en présente deux (cellules vésiculeuses et cellules adipogranuleuses stockant le glycogène, les protéines et les lipides). Les deux espèces montrent des stratégies similaires et synchrones, avec des cycles (des réserves et des cellules de stockage) qui se déroulent en étroite liaison avec le cycle de reproduction (Id Halla, 1997). L'accumulation des réserves constitue une réponse directe aux conditions du milieu; elle coïncide avec la prolifération de la biomasse phytoplanctonique qui a lieu dans la région, entre février et août, à la suite de l'installation du courant d'up welling. La comparaison des teneurs de réserves chez les deux espèces montre que *P. perna*, bien qu'elle ne possède qu'un seul type de réserve (cellules à glycogène), présente des valeurs moyennes en glycogène, lipides et protéines plus importantes que celles de *M. galloprovincialis* du même âge et prélevée dans les mêmes sites.

Le présent travail vise à compléter les données relatives à la biologie des moules dans la baie d'Agadir. Il rapporte les résultats de nos investigations portant sur l'étude comparative de la croissance, de la densité, de la biomasse, de la mortalité et du recrutement. Cette étude a été réalisée dans deux sites représentatifs de la baie d'Agadir· Cap Ghir (site de référence) et Anza (site pollué).

MATERIEL ET METHODES

Sites étudiés

Deux sites ont été retenus pour la réalisation de cette étude:

a) Un site de référence: Cap Ghir (30°38' Nord de latitude et 9°53' Ouest de longitude). Situé à 50 Km au nord d'Agadir (loin de toute perturbation anthropique), il est caractérisé par un hydrodynamisme très intense et une biomasse phytoplanctonique élevée, durant une longue période de l'année, due à l'apport considérable de nutriments par les upwellings (Regragui, 1991; Id Halla, 1997).

b) Un site pollué: Anza (30°26' Nord de latitude et de 9°38' Ouest de longitude). Il est situé à 10 Km au nord d'Agadir. Ce site reçoit les rejets des eaux usées domestiques et industrielles de la ville d'Anza. L'étude des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer et du sédiment a montré que ce site est réellement perturbés (Id Halla, 1997). Ceci a été également confirmé par d'autres études écotoxicologiques (Bari, 1994, Najimi *et al.*, 1997; Lagbouri, 1997).

Echantillonnage et prélèvements des animaux

Dans les deux sites et pour les deux espèces, des prélèvements mensuels ont été réalisés durant deux cycles annuels allant d'octobre 1994 à août 1996.

L'étude relative à la dynamique de populations (densité, recrutement et mortalité) a concerné la totalité des moules récoltées dans des surfaces de 225 cm^2 choisies d'une façon aléatoire dans le médiolittoral. Les mollusques sont triés et débarrassés des épibiontes. Pour chaque prélèvement, les effectifs des différentes classes de taille sont déterminés (l'intervalle retenu pour la constitution des différentes classes est de 2 mm). Ces effectifs ont été utilisés dans l'estimation des paramètres du modèle de croissance absolue de l'équation de von Bertalanffy. D'autre part, un suivi de la densité a été réalisé en répartissant les animaux en 2 lots (≤ 5mm et > 5 mm) afin de préciser les périodes de recrutement.

L'étude de la croissance allométrique a porté sur 50 animaux de 1 à 5 cm. Pour chaque individu, nous mesurons à l'aide d'un pied à coulisse au $1/100^{ème}$ de millimètre, la hauteur de la coquille (prise suivant l'axe antéro postérieur). Les poids frais et sec de la masse molle sont mesurés à l'aide d'une balance de 0,001 g de précision, pour estimer la croissance pondérale. Le poids sec est obtenu après dessiccation totale à 100 °C durant 24 h au minimum. Ces mesures sont utilisées pour estimer la croissance pondérale (Sekkat, 1984, Boutbib et El Boudrari, 1984).

Par ailleurs, afin de comparer l'évolution des paramètres pondéraux (poids frais et sec) chez des animaux de la même taille dans les deux sites, six mollusques de chaque espèce (taille 4 cm) ont été prélevés mensuellement.

Pour l'étude de la répartition spatiale des deux mollusques, des prélèvements ont été réalisés dans les trois niveaux du médiolittoral durant la première année. Les moyennes des effectifs des animaux dans les différentes states, ont été comparées chez les deux espèces.

Traitement des résultats et analyse statistique

L'étude de la croissance des différents paramètres (pondéraux et linéaire) a été réalisée par l'analyse de variance et comparaison de moyennes (L.S.D.) en utilisant le programme STATISTICA.

L'étude de la relation entre les différents paramètres de la croissance a été réalisée par la comparaison des droites de régression fonctionnelles (Snedecor *et* Cochran, 1972) reliant la hauteur aux divers paramètres pondéraux, suivant le modèle:

$$Y = a X^b$$

où LnY = Ln *a* + *b* LnX, et où a et b sont les coefficients de la droite de régression.

Dans ce cas de relation d'allométrie cubique (entre paramètres pondéraux et linéaire), le poids des individus varie en fonction du volume. Le coefficient *a* peut alors prendre des valeurs égales, inférieures ou supérieurs à 3. Ces valeurs traduisent respectivement une isométrie (croissance identique du paramètre étudié par rapport au paramètre de référence), une allométrie négative (croissance moins importante du paramètre étudié) ou une allométrie positive (accroissement plus important).

Les paramètres du modèle de croissance absolue de l'équation de von Bertalanffy

$$(Lt = L\infty [\, 1- Exp (- K (t - t_0)])$$

sont estimés à partir de l'analyse de la distribution des fréquences de taille en utilisant le programme L.F.D.A. (Lenght frequency distribution analysis). L'outil informatique utilisé est ELEFAN 1. La méthode est basée sur l'algorithme décrit par Pauly (1987), qui permet l'estimation de L∞ (hauteur maximale théorique), K (taux avec lequel l'animal évolue à L∞) et t_0 (temps de recrutement à la population). Le taux de mortalité est déterminé par la méthode de Beverton et Holt (1956). Les différents paramètres de l'équation de von Bertalanffy ont été déterminés pour les deux espèces dans les sites de référence et pollué.

RESULTATS

Distribution

L'étude de la répartition spatiale (tableau 1) de *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna*, montre que les deux mollusques cohabitent au dans les trois niveaux du médiolittoral avec prédominance de *M. galloprovincialis* dans le médiolittoral supérieur et de *P. perna* dans le médiolittoral inférieur.

Tableau 1 Comparaison des moyennes des effectifs chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* dans les deux stations (Cap Ghir et Anza) (Médio inf: Médiolittoral inférieur, Médio moy: Médiolittoral moyen, Médio sup: Médiolittoral supérieur, M Moyenne, Et Ecart-type, ES. Erreur Standard, Indice de dispersion, LSD: Test L.S.D.) (S = significatif et NS = non significatif à 95%)

	Cap Ghir						Anza					
	Médio. inf.		Médio. moy.		Médio. sup.		Médio. inf.		Médio. moy.		Médio. sup.	
	P. p.	*M. g.*	*P. p.*	*M. g.*	*P. p*	*M. g.*	*P. p.*	*M. g.*	*P. p.*	*M. g.*	*P. p*	*M. g.*
M	340,7	226,1	134,4	402,7	30,8	203	169,2	218,4	0	0	41,8	539,1
Et	218,5	96,6	30,1	105,8	11,2	94.3	124,3	125,3	0	0	40,6	313
ES	63,0	27,9	8,7	33,4	4,1	27,2	35,9	36,2	0	0	11,7	90.4
LSD	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Croissance

La détermination des différentes droites de régression reliant la hauteur aux paramètres pondéraux (poids sec et frais) montre une bonne corrélation entre ces derniers et la hauteur (coefficient de corrélation généralement supérieur à 95% sauf pendant les périodes de ponte).

Croissance allométrique

Les figures 1a-d rapportent les relations entre la hauteur et les différents poids. Elles montrent que la hauteur croît plus rapidement que les poids sec et frais (avec une légère allométrie négative). La période de ponte principale est caractérisée par une diminution de la vitesse d'accroissement des différents poids, en particulier à Cap Ghir.

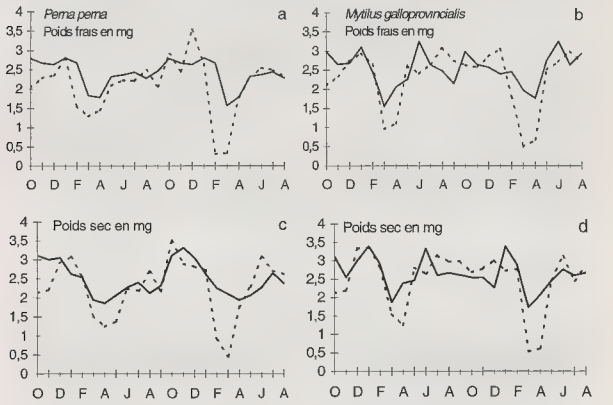


Figure 1. Variation de pentes des droites de régression chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* à Anza (en trait plein) et à Cap Ghir (en pointillé) au cours de la période d'étude (octobre 94 à août 96), selon l'équation Log H = a Log X + b (avec H = hauteur et X = poids frais ou poids sec de la masse molle).

Croissance pondérale

Les figures 2a-d montrent les variations annuelles de la valeur moyenne des poids frais et sec chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* (individus de taille 4 cm) des deux sites.

Dans le site de référence, les variations du poids frais sont similaires chez les deux espèces. La différence réside dans l'amplitude de ces variations. Pour le poids sec, le profil de variations montre:

- chez *P. perna*, une augmentation du poids sec aboutissant à une valeur maximale en janvier 95. Par la suite, on note une diminution rapide jusqu'au mois de mai 95. Entre mai et septembre 95, on assiste de nouveau à une augmentation importante du poids sec. Un profil similaire est enregistré au cours de la deuxième année d'étude.

chez *M. galloprovincialis*, le poids sec augmente également entre octobre et décembre, diminue entre décembre et avril 95 pour augmenter entre avril et octobre.

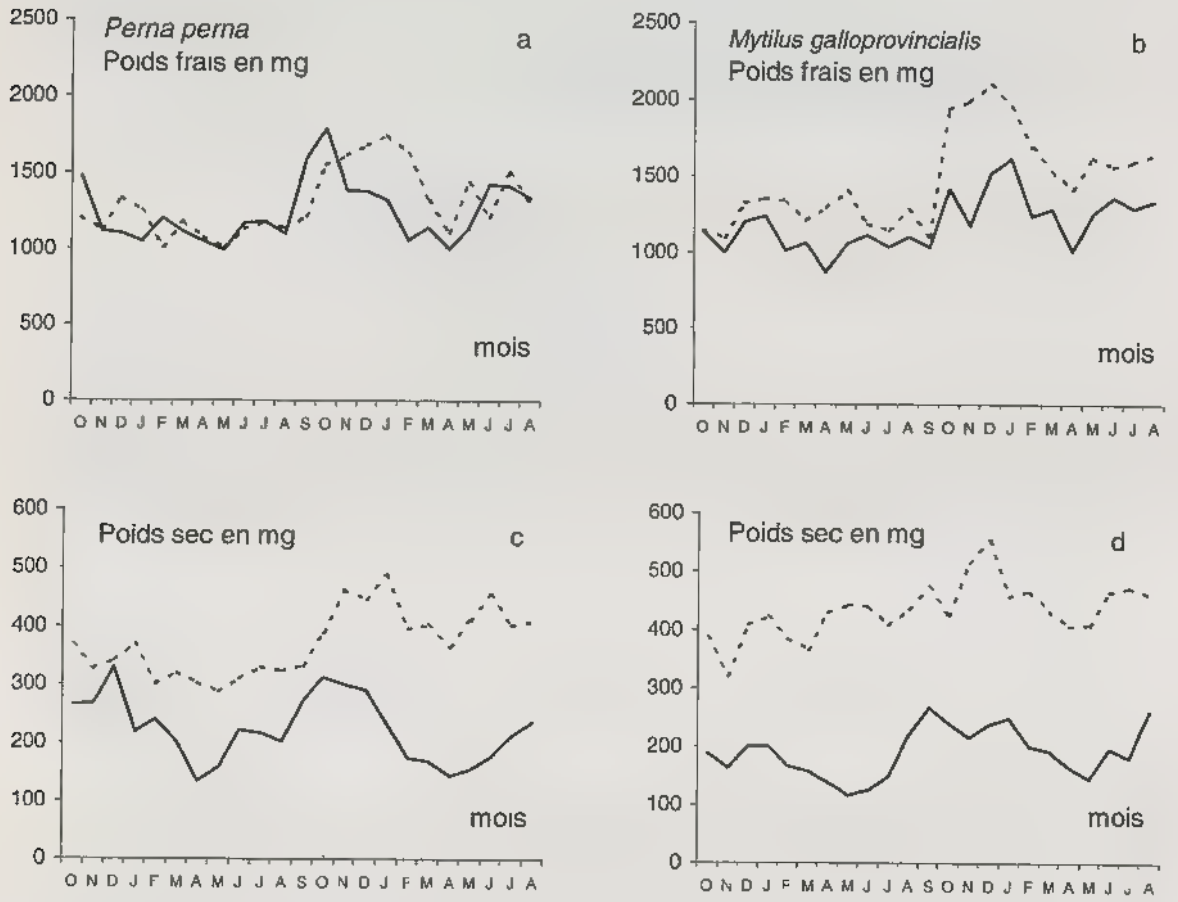


Figure 2. Evolution saisonnière des poids frais et sec des moules *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* à Anza (en pointillé) et à Cap Ghir (en trait plein) durant la période octobre 95 août 96.

Dans le site pollué, comme dans le site de référence, chez les deux espèces, les variations annuelles présentent des profils comparables. Toutefois, les périodes de chute du poids sec ne sont pas aussi nettes.

La comparaison des valeurs moyennes des poids frais et sec montre que ces valeurs sont: i) significativement plus élevées pour les animaux d'Anza que pour ceux du cap Ghir, ii) plus élevées chez *P. perna* que chez *M. galloprovincialis*.

Dynamique de population

Densité

L'évolution mensuelles des densités des animaux de taille supérieure ou égale à 5 mm est représentée dans la figure 3a. D'une manière générale, la densité montre le même profil pour les deux espèces avec une augmentation au printemps suivie par une diminution en été. Les valeurs sont légèrement plus importantes pour *Perna perna* que pour *Mytilus galloprovincalis*

A Cap Ghir, l'évolution annuelle montre un pic au printemps (mars 95 et avril 96) avec des valeurs maximales de 34 800 et 62 532 ind/m² respectivement pour la première et la deuxième année d'étude, chez *P. perna*. A Anza, ces valeurs sont enregistrées en mars pour 95 (12 812 ind/m²) et en février 96 (11 134 ind/m²). Dans les deux sites, les densités de ce mollusque diminuent à partir de mars pour atteindre un minimum en août-septembre (1 836 ind/m² à Anza et 17 600 ind/m² à Cap Ghir).

Chez *M. galloprovincalis*, dans le site de référence, les densités maximales sont enregistrées en mai pour 1995 et en mars pour 1996 (respectivement 32 000 et 54 107 ind/m²) (Fig. 3a). A Anza, ces valeurs sont enregistrées toujours au printemps et sont de l'ordre de 8 500 et 10 670 ind/m² (d'une manière respective). Dans les deux sites, les fluctuations saisonnières sont semblables.

Recrutement

La figure 3b rapporte l'évolution des effectifs des animaux de taille inférieure à 5mm. Pour les deux espèces et dans les deux sites étudiés, le recrutement a lieu pendant toute l'année, avec des valeurs maximales au printemps et minimales en été.

Croissance absolue

Chez *Perna perna* (Fig. 4) du site de référence, l'équation de von Bertalanffy, déterminée par la distribution des fréquences de tailles mensuelles, est:

$$Lt = 97,4\ [\ 1- Exp\ (-0,645\ (t + 0,152)]$$

avec $L\infty = 97,4$ mm; $K = 0,645$ et $t_0 = 0,152$. Ceci montre que le taux de croissance est rapide les première et deuxième années (respectivement 41,97 et 22,02 mm). Ensuite, la croissance diminue. Elle est de 11,55 et 6,06 mm respectivement pour les 3ème et 4ème années.

Dans le site pollué. l'équation est:

$$Lt = 76,5\ [\ 1- Exp\ (-0,177\ (t + 0,252)]$$

avec $L\infty = 76,5$ mm; $K = 0,177$ et $t_0 = -0,252$

Chez *Mytilus galloprovincalis* (Fig. 4), Les équations de von Bertalanffy, pour les sites de référence et pollué sont respectivement:

$$Lt = 85,1\ [\ 1- Exp\ (-0,587\ (t + 0,126)]$$

avec $L\infty = 85,1$ mm; $K = 0,587$ et $t_0 = -0,126$.

$$Lt = 63,2\ [\ 1- Exp\ (-0,138\ (t + 0,352)]$$

avec $L\infty = 63,2$ mm; $K = 0,138$ et $t_0 = -0,352$

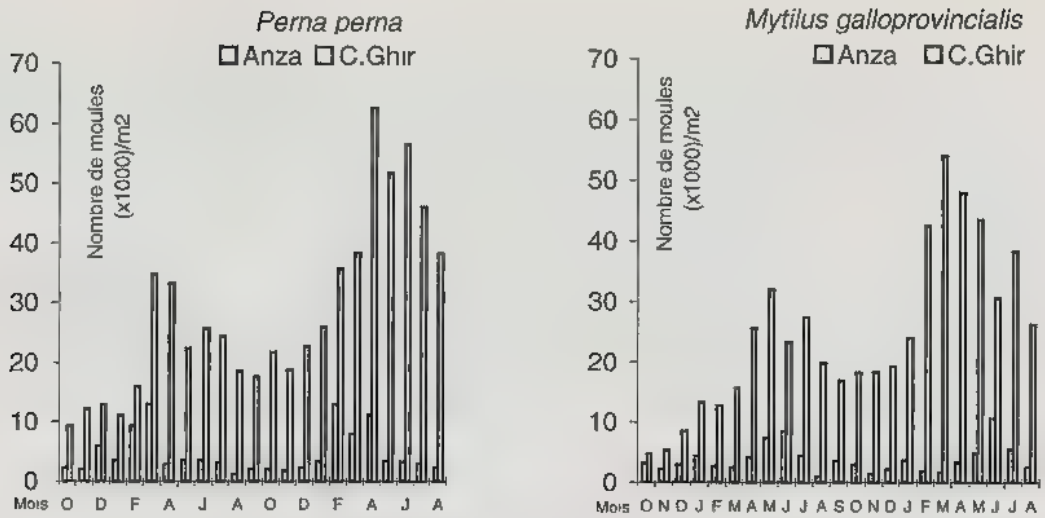


Figure 3a. Variation saisonnière de la densité des individus de tailles (> à 5mm) chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* dans les deux sites (octobre 94 - août 96).

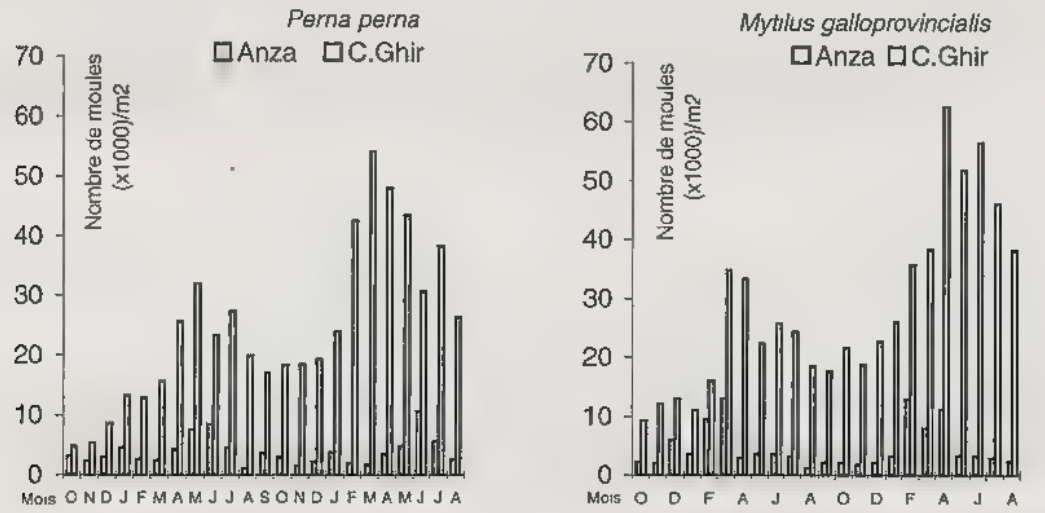


Figure 3b Variation saisonnière de la densité des individus de tailles comprise entre 0 et 5 mm chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* dans les deux sites (octobre 94 - août 96). Par rapport au site de référence, le taux de croissance est moins important, il est de l'ordre de 11,87, 9,94 et 8,33 mm respectivement pour les 1ère, 2eme et 3eme années La taille atteinte en une année par les animaux du Cap Ghir (soit 51 mm) n'est théoriquement atteinte, par les animaux d'Anza, qu'en six ans. De même, la taille maximale est atteinte au bout de 5 ans dans le premier site, alors qu'elle ne serait atteinte qu'en 15 ans dans le second.

Comme chez *P. perna*, le taux de croissance chez *M. galloprovincialis* est important durant les deux premières années dans les deux sites. Par ailleurs, il est moins important chez les animaux du site pollué par rapport au site de référence. En effet, le taux de croissance est de 35,09; 19,51 et 10,85 mm à Cap Ghir, et de 7,76, 6,76 et 5,85 mm à Anza (respectivement durant les 1ère, 2ème et 3ème années). La taille atteinte en une année par les animaux du Cap Ghir (41 mm) n'est atteinte par les animaux d'Anza qu'en 7 ans. De même, la taille maximale est théoriquement atteinte au bout de 6 ans à Cap Ghir, contre 20 ans pour Anza.

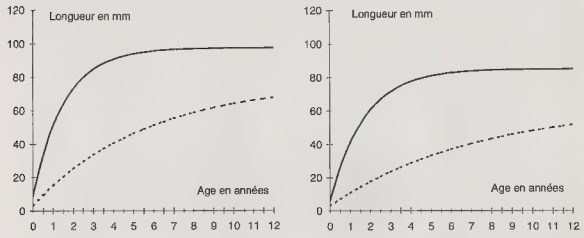


Figure 4 Croissance absolue chez les moules *Perna perna* (à gauche) et *Mytilus galloprovincialis (à droite)* à Anza (pointillés) et à Cap Ghir (trait plein).

Taux de mortalité

Le tableau 2 montre l'évolution du taux de mortalité totale (estimé par l'équation de Beverton et Holt (1956)) chez les deux espèces, dans les deux sites.

D'une manière générale, la mortalité totale est plus importante chez les animaux d'Anza par rapport à ceux de Cap Ghir.

Pour *Perna perna* du Cap Ghir, la mortalité totale varie de 0,488 à 1,534, elle est plus importante pendant les mois d'été (août et septembre) et pendant les périodes de pontes (février avril). A Anza, le taux de mortalité est élevé durant presque toute l'année (0,726 à 3,064) avec un maximum janvier-mars.

Pour *Mytilus galloprovincialis* du site de référence, la mortalité varie entre 0,562 et 1,710 et est également plus importante en été (juillet à septembre) et pendant les périodes de pontes (janvier mars). A Anza, comme pour *P. perna*, le taux de mortalité est plus élevé (0,824 à 3,680) par rapport au Cap Ghir.

Tableau 2 Evolution du taux de mortalité totale (estimé par l'équation de Beverton et Holt (1956)) chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* dans les deux stations (Cap Ghir et Anza)

Date de Prélèvement	Mortalité Totale			
	Perna perna		*M. galloprovincialis*	
	Cap Ghir	Anza	Cap Ghir	Anza
Oct-94	0,544	1,709	0,624	1,734
Nov-94	0,488	0,971	0,652	1,176
Déc-94	0,721	1,295	0,961	1,876
Jan-95	0,939	2,108	1,541	2,432
Fév-95	1,105	1,726	1,103	1,864
Mar-95	1,497	2,023	1,291	1,388
Avr-95	1,524	1,169	0,927	0,911
Mai-95	0,516	1,351	0,621	1,311
Jun-95	0,541	0,746	0,562	0,967
Jul-95	0,604	0,925	1,011	0,904
Aut-95	1,454	0,726	1,633	2,763
Sep-95	1,432	1,604	1,548	3,084
Oct-95	0,878	0,961	0,798	1,412
Nov-95	0,584	0,836	0,864	0,890
Dec-95	0,849	0,939	0,709	1,622
Jan-96	0,582	1,362	1,052	1,883
Fév-96	1,001	2,165	1,317	3,680
Mar-96	1,213	3,064	1,423	2,563
Avr-96	1,534	1,743	0,735	0,891
Mai-96	0,695	1,801	0,698	0,824
Jun-96	0,537	1,292	0,621	1,955
Jul-96	0,624	2,095	1,574	2,066
Aut-96	1,478	1,838	1,710	1,728

DISCUSSION

L'étude de la répartition spatiale de *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna*, montre que dans la baie d'Agadir, les deux mollusques cohabitent dans le milieu littoral selon deux gradients opposés: croissant du médiolittoral supérieur vers le médiolittoral inférieur pour *P. perna* et inversement pour *M. galloprovincalis*. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Sekkat (1984) dans la région de Temara (Région de Rabat, au nord du Maroc).

L'évolution saisonnière des différents paramètres de croissance est en étroite relation avec les différentes phases du cycle de reproduction. En effet, la vitesse d'accroissement des paramètres de croissance diminue pendant les périodes de pontes principales (février avril) déterminées par l'étude histologique réalisée par Id Halla *et al.* (1997) chez les mêmes espèces prélevées dans les mêmes sites, alors que les périodes d'augmentation du poids correspondent aux périodes de fortes activités gamétogénétiques et/ou de restructuration des réserves où on assiste à une accumulation des réserves. Des résultats similares sont rapportés par Sekkat (1984), Bitar et El Hannach (1987) et Naciri (1990). L'atténuation du taux de croissance des différents paramètres, enregistrée pendant les périodes de pontes peut être expliquée par un détournement du métabolisme au profit des événements sexuels. En effet, Bayne *et al.* (1983) signalent que la

croissance de la coquille des moules diminue pendant une courte période; les réserves en glycogène accumulés sont surtout utilisées, durant cette période, pour la gamétogenèse.

Les différents paramètres de croissance montrent des variations annuelles comparables chez les deux espèces, la différence réside dans l'amplitude de variation. En outre, les valeurs des poids sec et frais sont plus importantes chez *P. perna* que chez *M. galloprovincalis*, ce qui peut être dû à la quantité d'aliments absorbée qui est plus importante chez la première espèce dont la durée d'immersion est plus longue puisqu'elle vit dans une zone inférieure du littoral par rapport à *M. galloprovincalis* (Id Halla, 1997). Ceci expliquerait également le taux de croissance (K), déterminé par l'équation de von Bertalanffy et qui est plus élevé (41,97 et 22,02 mm respectivement en 1ère et 2ème années) chez *P. perna* par rapport à celui enregistré chez *M. galloprovincalis* (35,09 et 19,51 mm pour les deux premières années). En effet, Baird (1966) et Yamada (1989) signalent une réduction de la croissance avec l'élévation de la durée d'émersion. L'étroite relation entre le taux de croissance et la profondeur de l'eau est également rapporté par plusieurs auteurs (Rodhouse *et al.*, 1984; Page et Hubbard, 1987). Selon ces auteurs, elle reflète la variation de la nourriture en fonction de la colonne d'eau.

Par ailleurs, la comparaison des courbes de croissance absolue de *P. perna* et *M. galloprovincalis* dans la baie d'Agadir avec d'autres populations de moules dans d'autres régions (figure 5) montre que la croissance est plus importante que celle rapportée par Shafee (1992) chez *P. perna* dans la région de Rabat et par Dare *et* Edwards (1976) chez *M. edulis* en Angleterre. Ceci est probablement lié à l'abondance de nourriture due aux upwellings qui s'installent dans les côtes sud marocaines. Selon Seed (1976) et Shafee (1992), le taux de croissance varie également en fonction de la latitude et de la température. En effet, Gosling (1992) signale que la croissance des moules varie en fonction de la température. Almada Villela *et al.* (1982) montrent qu'entre 3 et 20°C, la croissance linéaire augmente d'une manière logarithmique D'autres auteurs (Wilson, 1977; Thompson, 1984) suggèrent que l'effet de la température est généralement combiné avec la nourriture. Page et Hubbard (1987) signalent qu'en Californie, la croissance de *M. edulis* est étroitement liée à la variation du phytoplancton. Loo *et* Rosenberg (1983) ont rapporté que les températures inférieures à 5° C ne limitent pas la croissance quand elles coïncident avec les blooms phytoplanctoniques du printemps.

Les valeurs de la densité enregistrées sont également supérieures à celles citées par Naciri (1990) et Shafee (1992) dans la région de Rabat et à celles rapportées par Abada-Boudjema (1983) et par Boubezari et Abada-Boudjema (1995) dans la baie d'Alger. Ceci pourrait être également dû aux facteurs du milieu et à la position géographique. Par ailleurs, la variation annuelle de la densité est étroitement corrélée au déroulement du cycle sexuel et au recrutement. En effet, les pics de fortes densités, chez les deux espèces, se rencontrent au printemps. Ces pics succèdent aux périodes de pontes avec un décalage d'environ 1 à 2 mois qui correspond à la durée du stade larvaire chez la moule. Selon Bayne (1976), ce stade est de l'ordre de 21 jours. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par Boubezari et Abada Boudjema (1995). Lubet (1973) rapporte que la densité varie en fonction du taux recrutement, des facteurs édaphiques et l'action des prédateurs.

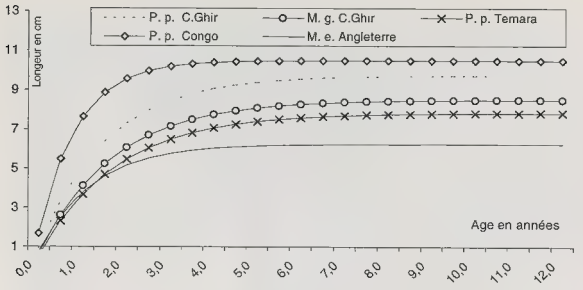


Figure 5 Croissance absolue chez les moules *Perna perna* (P. p.), *Mytilus galloprovincialis* (M. g.) et *Mytilus edulis* (M. e.) dans quatre zones géographiques différentes.

Chez les deux espèces, le recrutement a lieu durant toute l'année. Il est plus intense entre janvier et mai, et faible en été (juillet août). Selon Shafee (1992), la période de recrutement pour *P. perna* de Temara se situe entre mai et septembre. A Alger, le recrutement a lieu de mai à septembre (Abada-Boudjema et Moueza, 1981) alors qu'en Tunisie, le pic est observé en automne (Zaouali, 1973). Vakily (1989) cité par Shafee (1992) rapporte que les populations de *Perna* dans les régions tropicales et subtropicales montrent un recrutement continu durant toute l'année.

L'examen du taux de mortalité totale montre que, d'une manière générale, celle-ci est plus importante pendant les mois d'été (août et septembre) et ceux du printemps (février avril). La mortalité estivale pourrait être attribuée aux conditions environnementales en particulier la température et la nourriture disponible, alors que la mortalité printanière pourrait être liée à l'effort de reproduction. En effet, Lubet (1973) et Seed (1976) rapportent que le taux de mortalité des populations naturelles des moules dépend essentiellement de la taille des individus. Boubezari et Abada-Boudjema (1995), signalent aussi que le taux de mortalité élevé coïncide avec les périodes de recrutement.

Dans le site pollué, malgré un recrutement très important, la densité et le taux de croissance sont moins importants que dans le site de référence; le taux de mortalité est très élevé durant presque toute l'année. Ceci est probablement dû aux effets néfastes des eaux usées, rejetées dans ce site sans aucun traitement préalable, sur la physiologie des moules. En effet, selon Seed (1976), dans les conditions optimales *M. edulis* peut atteindre 60 à 80 mm en deux ans, alors que dans les conditions marginales, la croissance est réduite et n'atteignent que 20 à 30 mm en 15 à 20 ans. Richardson *et al.* (1990), rapportent également que les polluants tels que les métaux lourds, le tributylétain et les hydrocarbures entraînent une réduction significative du taux

de croissance. De même, Shafee (1992), signale que le taux de croissance le plus faible observé chez le genre *Perna* à Hong Kong est dû à la pollution environnementale. Les moules transférées d'une zone polluée vers une moins polluée montrent un taux de croissance plus élevé (Lee, 1986, cité par Shaffee, 1992). Le faible taux de croissance des moules d'Anza peut être également dû à la différence de salinité. En effet, l'apport considérable d'eaux usées par les égouts entraîne une diminution de la salinité à Anza (Id Halla 1997). Kautsky (1982), suggère que la différence entre le taux de croissance (K) et le taille maximale limite ($L\infty$) entre les moules de la mer Baltique et celle du Nord est probablement due aux adaptations physiologiques à différentes salinités. Selon le même auteur, la baisse de salinité réduit l'efficacité métabolique (le rapport O : N est très faible). Bayne *et al.* (1976), signalent que le O : N très faible est défavorable sur le plan énergétique.

CONCLUSION

L'ensemble des résultats (croissance rapide, densité très forte, cycle de reproduction sans repos sexuel et recrutement durant toute l'année) est en faveur de l'installation de la mytiliculture dans la région d'Agadir particulièrement pour *Perna perna* qui montre une meilleure performance que *Mytilus galloprovancalis*. Toutefois, une attention particulière doit être adressée aux rejets des eaux usés dans certains sites, en raison des perturbations qu'elles induisent sur les mollusques.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Monsieur le Professeur Pierre Lubet (Université de Caen) pour ses conseils et sa lecture critique de ce manuscrit. Ils remercient également le Ministère des Affaires Etrangères (France), l'IFS (Suède) et l'AUPELF (Canada) pour leur soutien financier

BIBLIOGRAPHIE

Abada-Boudjema Y., 1983 Etude dynamique de deux populations de moules *Mytilus galloprovancalis (Lmk)* de Borj El Kiffan (Baie d'Alger) *Thèse de 3ème cycle Océanographie* Université des Sciences et de Technologie Houari Boumédiane, Alger, 115 p

Abada-Boudjema Y. & Moueza M., 1981. Structure des populations d'une moulière naturelle en baie d'Alger, *Acta Oecologica, Oecologia generalis* **2** (2): 183-194.

Almada Villela P.C., Davenport J & Gruffydd L.L.D., 1982 The effets of temperature on the shell growth of young *Mytilus edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **59**: 275-288

Baird R.H., 1966. Factors affecting the growth and condition of mussels (*Mytilus edulis* L.). *Fishery Investigations, Ministry of Agriculture Fisheries and Food*, London, Ser. II., **25** (2): 1-32

Bari H., 1994 Evaluation du taux de métaux lourds et quelques paramètres physico chimiques dans les eaux usées de la ville d'Agadir. *Mémoire de CEA.*, Université Ibnou Zohr, 20 p

Bayne B.L., 1976 Marine mussels, their ecology and physiology *Cambridge University Press., Cambridge U. K.*, 356 p.

Bayne B. L., Slkeld P.N & Worrall C.M., 1983. Reproductive effort and value in different populations of the marine mussel, *Mytilus edulis* L. *Oecologia* (Berlin) **59:** 18-26

Berraho A , 1998. Ressources halieutiques et potentialités aquacoles au Maroc. Expo'98, Lisbonne, 1998 82 p

Beverton R.J H. & Holt S.J., 1956. A review of methods for estimating mortality rates in fish population, with special reference to sources of bias in catch sampling *Rapports et procès-verbaux des réunions, CIEM* **17**A: 1-153.

Bitar G. & Hannach, A., 1987 Morphométrie et relations pondérales d'une moulière (*M. galloprovincialis et P. perna*) dans la région de Sidi R'bat (Maroc atlantique) *Bulletin de l'Institut Scientifique,* Rabat, **11**. 141-146.

Boubezari K & Abada Boudjema Y , 1995. Densité et biomasse comparées de deux espèces de moules: *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) et *Perna perna* (L) dans trois moulières naturelles de la région d'Alger *Haliotis* **24**: 33-41.

Boutbib H & El Boudrari L., 1984. Evaluation de la production d'une population de moules africaines *Perna picta* (Born, 1780) dans la région de Témara (Rabat). *Mémoire de fin d'études,* I A V. Hassan II. 41 p.

Dare, P J., 1976. Settlement, growth and production of the mussel, *Mytilus edulis* L., in Morecambe bay. *Fishery Investigations, Ministry of Agriculture Fisheries and Food,* London, Ser. II, **28** 1-25.

Gosling E , 1992. The mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* **25**. Elsevier, Amsterdam, 565 pp.

Id Halla M , 1997 Etude de la biologie des moules *Perna perna* Linné (1758) et *Mytilus galloprovincialis* Lamarck (1819) dans la baie d'Agadir. *Thèse de Doctorat de 3ème cycle,* 157 p

Id Halla M , Bouhaimi A., Zekhnini A , Narbonne J.F., Mathieu M & Moukrim A , 1997 Etude du cycle de reproduction de deux moules *Perna perna* (Linné 1785) et *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) dans la baie d'Agadir, (Sud du Maroc). *Haliotis* **26**. 51-62.

Kaaya A., Najimi S., Ribera D., Narbonne J.F. & Moukrim A., 1999 Characterization of Glutathione S-transferases (GST) Activities in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* used as Biomarker of Pollution in the Agadir Marine Bay (South of Morocco) *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **62**(5): 623-929

Kautsky N , 1982 Quantitative studies on the gonad cycle, fecundity, reproductive output and recruitment in a Baltic *Mytilus edulis* population. *Marine Biology* **68**: 143-160.

Lagbouri A , 1997 Etude de la biologie de *Donax trunculus* dans la baie d'Agadir et de sa réponse à la pollution à travers trois biomarqueurs (Acétylcholinestérase, Peroxydation lipidique et Glutathion S Transférase). *Thèse de Doctorat de 3ème cycle,* Agadir, 170 p

Loo L.O. & Rosenberg R., 1983 *Mytilus edulis* culture. growth and production in western Sweden. *Aquaculture* **35**: 137-150.

Lubet P., 1973. Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmk, 1819) (Atlantique et mediterranée). *Synopsis FAO sur les pêches,* **88**: 1-49

Moukrim A , Kaaya A , Najimi S , Roméo M., Gnassia-Barelli M , 2000 Assessment of the Trace Metals Level in Two Species of Mussels of the Agadir Marine Bay (south of Morocco) *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **65**: 478-485

Naciri M., 1990 Etude bio écologique et démographique d'une population de *Mytilus galloprovincialis* Lmk sur la côte atlantique marocaine (Témara) *Thèse Doctorat 3ème cycle*, Université Mohamed V Faculté des Sciences de Rabat. 112 p.

Najimi S., Bouhaimi A., Daubeze M., Zekhnini A., Pellerin J., Narbonne J F & Moukrim A., 1997 Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of pollution in Agadir Marine Bay (South of Morocco). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **58** 901 908

Page H M & Hubbard D M., 1987 Temporal and spatial patterns of growth in mussels *Mytilus edulis* on an offshore platform. relationships to water temperature and food availability *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **111**: 159-179.

Pauly D., 1987. A review of the ELEFAN system for analysis of length-frequency data in 7-34 in Pauly, D. and Morgan, G.R. (Eds) Length-based methods in fisheries research ICLARM, Manila, Philippines and KISR, Safat fish and aquatic vertebrate pages, Kuwait. 468 p

Regragui A., 1991. Introduction à l'étude écohydrodynamique de la baie de Dakhla. *Mémoire d'obtention du Grade de Maître en Océanologie*, Université de Liège, Belgique, 78 p.

Richardson C.A., Seed R. & Naylor E., 1990 Use of internal growth bands for measuring individual and population growth rates in *Mytilus edulis* from offshore production platforms. *Marine Ecology Progress Series* **66**: 259-265.

Rodhouse P.G., Roden S M., Brunell G.M., Hensey M.P., Mcmahon T., Ottway B. & Ryan T H., 1984. Food ressource, gametogenesis and growth of *Mytilus edulis* on the shore and in suspended culture. Killary Harbor, Ireland *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **64**. 513 529

Seed R., 1976 Ecology *in:* B.L Bayne (Editor), Marine mussels, their ecology and physiology. *Cambridge University Press.*, Cambrige U. K., 13-65

Sekkat R.S., 1984 Etude de la biomasse, la structure et la croissance relative de deux populations de moules *Mytilus galloprovincialis* Lmk. et *Perna perna* L. dans la région de Rabat *Mémoire de fin d'étude*, I.A.V. Hassan II, 62 p.

Shaffee M.S., 1992. Production estimate of a mussel population *Perna picta* (Born) on the atlantic coast of Morocco. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **163:** 183-197.

Snedecor G.W & Cochran W S., 1972 Statistical methodes. Iowa State college Press, Ames, 593 p

Thompson R.J., 1984 Production, reproductive effort, reproductive value and reproduction cost in a population of the blue mussel *Mytilus edulis* from a subartic environment. *Marine Ecology Progress Series* **16** 249 257.

Wilson J.H., 1977. The growth of *Mytilus edulis* from Calingford Lough *Irish Fisheries Investigations. Series B: Marine* **17**. 1-15.

Yamada S.B., 1989. *Mytilus californianus*, a new aquaculture species. *Aquaculture* **81**: 275-284.

Zaouali J., 1973 Note sur la présence de *Perna perna* (L), *Mytilus africanus* (Chemnitz) dans la région de Bizerte (Tunisie) Etude quantitative du peuplement. *Bulletin de l'Institut Océanographique et des Pêches de Salambo* **2**(4): 637-642.

The action of some heavy metals on the calcification process of *Anodonta cygnea* (Unionidae): nacre morphology and composition changes

Gabriela MOURA [1], *Laura VILARINHO* [2], *Rui GUEDES* [3] *and Jorge MACHADO* [1,4] (✉)

RÉSUMÉ

L'action de quelques métaux lourds dans le processus de calcification de l' *Anodonta cygnea* (Unionidae): morphologie de la nacre et modifications de composition

Des spécimens du bivalve d'eau douce de l'espèce *Anodonta cygnea* (L.) ont été incubés avec les métaux lourds Cd, Cu, Cr, Zn et Pb. Ensuite, les couches internes de la coquille, c'est à dire, la nacre la plus récemment déposée, ont été observées par microscopie électronique à balayage (SEM) et analysées pour leur composition organique (contenu de matérial organique, protéines totales, acides aminés totaux, chitine, et glycosaminoglycans totaux).

Morphologiquement, on a observé un contenu organique plus elevé au niveau du groupe d'exposition au Cu. Le groupe du Zn, pour sa part, présente ce que semble être des couches de nacre en croissance active, sans aucune scarification des surfaces de cristaux et avec, au moins, quatre couches singulières se développant en même temps.

Pour ce qui concerne la composition organique, tous les groupes expérimentaux ont montré des contenus protéiques accrus, ainsi que des quantités de glycosaminoglycans. La chitine a aussi augmenté, à l'exception du groupe Zn. Ce groupe a montré aussi une tendance particulière au regard de la composition totale des acides aminés, laquelle semble la moins perturbée, en particulier dans ce qui concerne Gly et Ala, mais aussi relativement à Asx, les deux premiers acides aminés étant très liés avec la fraction de la matrice organique insoluble, et lae troisième avec la fraction soluble. Cela suggère que tous les autres groupes expérimentaux n'étaient pas normalement calcifiés en raison d'une manque de ces matériaux, avec la conséquente accumulation de chitine, le matéral inerte de la trame organique présent dans ces coquilles.

[1] Laboratório de Fisiologia Aplicada, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Lg. Prof. Abel Salazar, 2. 4099-003 Porto, Portugal. Fax. +351-2-2062232. E-mail <jmachado@icbas.up.pt>

[2] Laboratório de Biologia, Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães. Porto, Portugal

[3] Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP). Porto, Portugal.

[4] Centro de Investigação Marítima e Ambiental (CIMAR). Porto, Portugal

ABSTRACT

Specimens of the freshwater bivalve species *Anodonta cygnea* (L.) were incubated with the heavy metals Cd, Cu, Cr, Zn and Pb. Afterwards, their inner shell layers, i.e. the most recently deposited nacre, were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and for their organic contents (organic matter content, total proteins, total amino acids, chitin, and total glycosaminoglycans).

Morphologically, a higher organic content of the Cu-exposure group was observed. Zinc group, on the other hand, shows what seems to be active growing nacre layers, with no etching of the crystal surfaces and at least four single layers developing at the same time.

As to the organic composition, all experimental groups showed increased protein contents, as well as glycosaminoglycan amounts. Chitin was also increased, with the exception of the Zn group. This group also shows a particular trend with respect to the total amino acid composition, where it seems to cause the smallest disturbance, particularly in what Gly and Ala are concerned, but also with respect to Asx, the first two amino acids being highly related to the insoluble organic matrix fraction and the third to the soluble one. This suggests that all other experimental groups were not normally calcified by the lack of these materials, with a consequent accumulation of chitin, the inert framework material present in these shells.

INTRODUCTION

It is known, for a considerable time, that the presence of heavy metals can cause serious disturbances in the outcoming shell structures of mollusks, which can be detected through morphological or biochemical analyses. However, the exact behavior and general effects of these elements on shell morphology and ultrastructure are not yet understood (Palmer and Carriker, 1979).

We now describe the morphology and organic matrix composition of the nacre from the freshwater mussel *Anodonta cygnea* after heavy metal exposure, under the concept of biomineralization. Our goal is to study the overall effects of the contaminants in the mineralization process, but especially the specific roles played by each particular component of the organic matrix, eventually altered by the experimental situation.

MATERIALS AND METHODS

Animal handling

Lake mussels, belonging to the species *Anodonta cygnea* (L.), were collected through dredging from the clay bottom of Mira lagoon (Aveiro, Portugal).

Twelve specimens of about 200 g body weight were randomly assigned to each treatment category, kept in plastic tanks with circulating natural pond water. Tanks were placed in relative darkness, to simulate natural conditions, and the water was aerated and used in the tanks without any pretreatment.

Toxic incubations were performed as follows: (1) a control group bathed only in natural pond water; (2) animals placed in five tanks where, once every two days, was added around 10^{-6} M (between 1 and 2 ppm) of each metal chosen, which were: copper as $CuSO_4$, zinc as $ZnSO_4$, cadmium as $CdCl_2$, lead as PbCl, and chromium as CrCl. Each exposure period lasted for one day, during which the circulation was interrupted.

All the metals were added to the tank water from a stock solution previously prepared with distilled water. These heavy metals were selected because they allow comparison of essential-nonessential elements. The concentrations used in this experience are probably higher than that to be expected even in very polluted waters. They were chosen so high in order to produce clear results.

A 8-month experimental period was chosen, to allow some shell growth and the consequent pollutant effect to be detectable (Palmer, 1983). Some authors suggest that disturbed animals stop their growth (Coker et al., 1921). The long period chosen for the incubations, here reported, was meant to overcome this situation, yielding some growth of new shell, under the respective influence of each pollutant agent.

No monitoring of trace metals in the experimental systems was performed, and no food of any kind was added to any experimental or control tank, apart from that already present in the natural water used in the system.

During the exposure period daily observations were made to ensure that all animals were alive and siphoning normally. Mortality was zero in all tanks, except for two dead specimens collected in the Cd exposure tank, at the end of the whole experimental period.

For shell sample collection, animals were considered healthy if they showed active ventilation and powerful valve closing or water ejection upon disturbance and if their nacre presented a smooth and shiny look, with no deformities or anomalies of morphology.

After the animals' sacrifice, the respective shells were removed from their soft parts, brushed and cleaned on the exterior side, rinsed several times with distilled water, dried at room temperature and stored.

Scanning electron microscopy

The nacreous layer was investigated using a scanning electron microscope (Jeol JSM 6301 F) on gold-covered nacre surfaces from the central zone of the shells. Two shells of each experimental group were analyzed this way.

Chemical analyses

Before analysis, shell inner surfaces were washed with 0.2% NaOH to remove residual adhering organic matter, rinsed thoroughly in tap water and rinsed again in de ionized distilled water. Then, the shells were dried at 50°C to constant weight (overnight) and weighed.

The nacre considered is the region bordered by the line of attachment of pallial muscles, the adductor muscles and the ligament. One valve of each animal was placed on a sand tray with their nacre facing upwards, and 10 ml of 10% acetic acid (pH 4) were poured into it. Shell nacre was decalcified over 6 hours at room temperature, until complete stop of dissolution. By that time a sheet of organic membranes, forming a gelatinous substance, could be removed. All this material was brushed from the inner shell and treated together with the decalcifying medium, as well as the de-ionized and distilled water used to wash the whole decalcified zone.

Since EDTA tends to form huge, non removable complexes with organic shell material (Wheeler and Sikes, 1984), an acidic decalcification was chosen in order to avoid ambiguous results from the colorimetric quantification of shell components (Marxen and Becker, 1997).

Shell organic matrix samples were isolated by centrifugation of the material recovered from the decalcification process. The pellet was redissolved in water and spun 30 minutes at 15000 rpm for three consecutive times, to remove most residual acetic acid. This organic material was then dried by lyophilization, and weighted, being this value the basis for the organic matrix amount calculated as a percentage of the shell weight decalcified.

Keith et al. (1993) used the same decalcification method and discarded the supernatant after proving the absence of proteins. Therefore, this method was used for isolation of the total shell organic matrix (Allemand et al., 1994).

For protein and glycosaminoglycan analyses, organic matrix samples were dissolved in 5 ml NaOH 0.1N (Hewitt, 1958) at room temperature over 24 hours with periodic mixing and maceration, followed by centrifugation (3000 rpm during 10 minutes) for the supernatant utilization.

Protein concentration was determined in this solution by the colorimetric Lowry et al. (1951) method, using bovine serum albumin (Sygma) as standard. Sulfated and non sulfated glycosaminoglycans (GAG) were estimated by Whiteman (1973a, 1973b) Alcian Blue binding technique, using chondroitin sulfate as standard. The assay was adapted to the estimation of glycosaminoglycan in more dilute samples by increasing the aliquot size, as proposed by Gold (1979).

For technical reasons, amino acid and hexosamine analyses were made on three-sample mixtures, after individual hydrolysis of total matrix, i.e. the lyophilized pellet material.

Hydrolysis was performed in individual sealed ampoules in 6N HCl with 0.05% phenol for 20 hours at 110°C under nitrogen atmosphere, achieved through flushing with pure gas for 15 minutes before closure. After hydrolysis, samples were evaporated to dryness, diluted with a sodium citrate buffer, centrifuged, filtered, and 20-60 µl of supernatant were used for the amino acid analysis.

Amino acids were analyzed by ion-exchange chromatography on a ninhydrin-based detection automatic system, using a standard five-lithium-buffer system (LKB 4151 Alpha Plus® Amino Acid Analyzer), and wavelength readings at 570 and 440 nm, to allow proline and hydroxyproline readings. L Norleucine was used as internal standard during the amino acid measurements.

A standard mixture, containing 0.5 or 0.25 µmol/ml of each amino acid was used to calibrate the method. A similarly prepared standard of N acetylglucosamine was analyzed to identify the peak pattern and to allow its quantification in the samples (Brine and Austin, 1981). Chitin determination was hence based on the amount of glucosamine present after acidic hydrolysis, corrected for deacetylation, and GAG content of this amino sugar, based on a hyaluronic acid like composition.

The chromatographic method was tested through the analysis of recoveries of each amino acid, used in known concentrations. As a control for the identification of amino acid residues through the chromatographic separation, bi-dimension thin layer chromatography separation for visual analysis was performed in a group of samples, according to Bremer et al. (1981), using cellulose plates of 20 x 20 cm (Merck). The resulting plates yielded good agreement with the chromatografic results.

Statistics

Data were statistically evaluated using the Statistica computer package. Differences between experimental groups were firstly tested for statistical significance by a one way analysis of variance (ANOVA) with fixed effects, and when significant differences were detected post hoc comparison analyses were performed using the Scheffé test. Normal distribution of data was controlled using Kolmogorov-Smirnov tests, homogeneity of variances using Levene's test, and the independence of variance by normal probability plot of residuals. Outliers were substituted by the most extreme value of the respective group. The ANOVA test was also used to the total amino acid data, in spite of the small number of readings, since these are reported to a mixture of three samples, hence giving an averaged value, which is theoretically normalized.

The significance level for all statistical analyses was set at 0.05, and so P determinations lower than this value were considered significant. Nacre organic matrix results are given in relation to the shell weight used, found by the weight difference between the whole untreated shells and the one after partial decalcification. All data are reported as means (n=6) and standard errors.

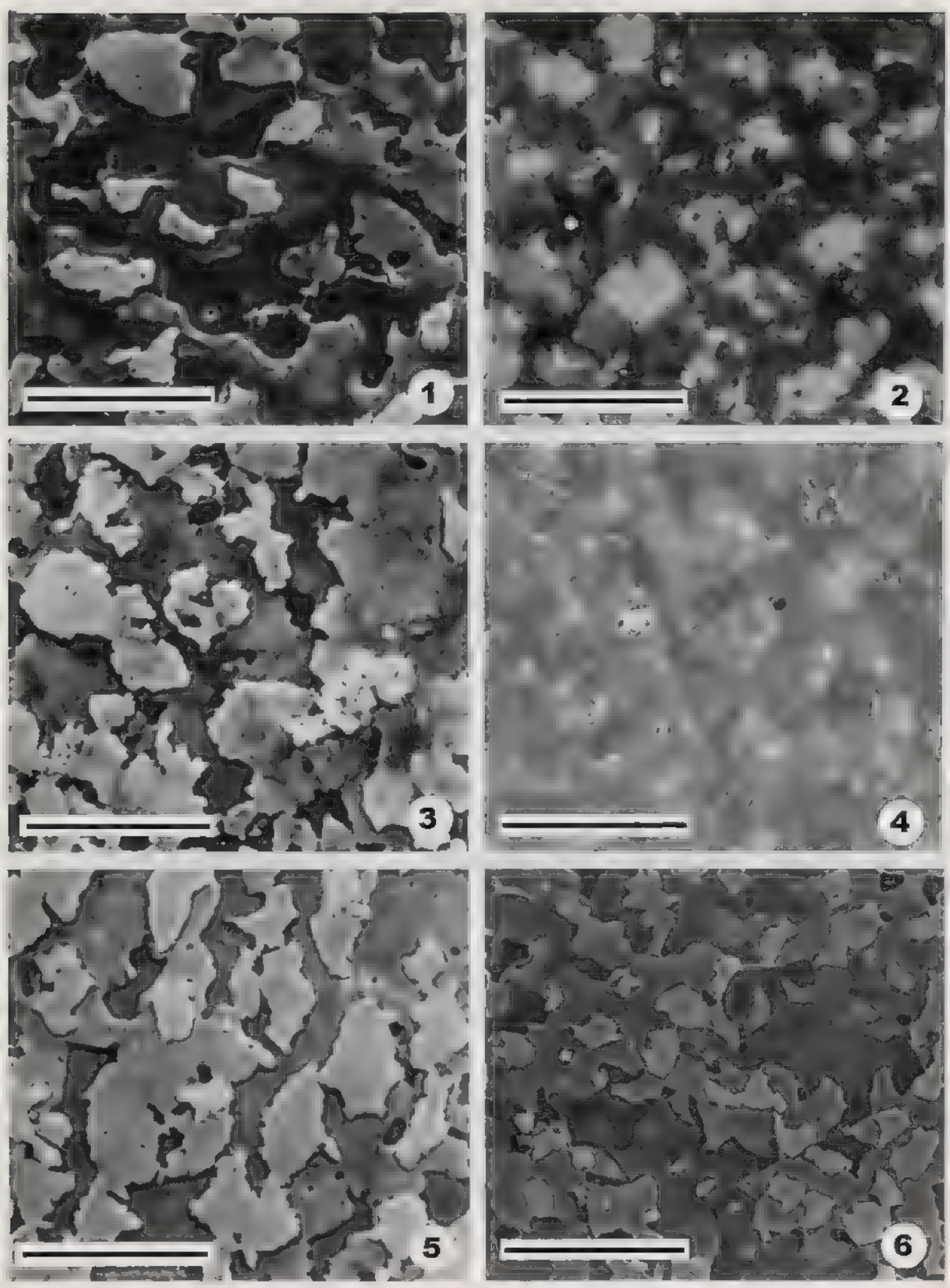
RESULTS

The scanning images obtained (Figures 1 to 6) show identical layered crystal formations, arranged according to their respective deposition timing, where the lower layer shows a more developed state, with visible attachment between the mineral plates. The crystals from the upper layer, the last to be formed, are generally of an irregular shape, a feature shared even by the animals of the control group (Fig. 1).

It is visible from these images the greater amount of organic matrix visible in the copper-exposure group (Fig. 4).

In what concerns the organic matrix composition (Figure 7), although with no significant value, one can perhaps suggest a trend for higher protein levels in all experimental groups, when compared to the relatively lower control one. Protein values only get closer to the control in chromium incubations, with the highest values being detected for copper. The GAG results are somehow similar, with chromium exposures yielding results closer to the control, although, in this case, the overall profile seems to be different, with lead, copper, and cadmium yielding higher results. The proportion of organic matter present in the shell, however, shows a less modified situation by comparison with the control. The only exceptions seem to be lead and chromium exposures, yielding the highest organic matrix levels detected.

With respect to the total amino acid amounts (Table 1), each experimental situation yielded specific tendencies, in what concerns the amino acid profile, when compared to the control. Lead seems to reduce Asx, Ser, Glx, Gly, Ala, Phe, and PPS and increase Thr, Val, Tyr, His and especially Pro. Zinc incubations result in the highest Asx levels, increasing also Thr, Ser, Glx, Tyr, Lys, and His, while only decreasing PPS levels. This metal is the only that does not seem to affect the Gly and Ala levels and, since these correspond to the main amino acids present in this matrix, it does not seem to change the total amino acid content of the shells either. Chromium increases Thr, Glx, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, PPS, Lys, His, and Arg, and decreases Gly, and Ala. Copper provokes lower values of almost all amino acids, with the exceptions of Val, Met, Ile, Leu, Tyr,


1
2
3
4
5
6

PPS, His, Arg, and Pro, which become equal or slightly higher than the control. Cadmium decreases Asx, Gly, Ala, while increasing Thr, Glx, Val, Met, Ile Leu, Tyr, His, and Arg.

In a general way, zinc is the metal that produces less amino acid changes, as can be seen in total amino acid data, whereas Mn and Cu cause the most visible modifications. The acidic/basic ratio (Table 2) is always lowered in experimental situations, when compared to the control, except for zinc, which produces less alteration in this respect. Cadmium provokes the lowest Asx/Glx value, being associated with a relative increase of Glx importance. On the other hand, lead increases the proportion of Thr to Ser, a feature detected for almost all experimental groups, except for copper, which yields the lowest alteration. Ala amounts are also increased, in comparison to Gly, in the major part of the groups. Again zinc is the only metal that seems to have no main effect in this ratio. Finally, the Asx/Gly ratio is always increased in pollutant exposed animals, either by a significant decrease of Gly importance, as in cadmium, copper, chromium, and lead, or by an increase of the Asx content, as in chromium. Zinc is the less altered situation, with both Asx and Gly being kept almost at normal levels.

Chitin (Figure 7), on the other hand, is less affected by zinc presence than by any other element tested. In fact, this shell component is greatly increased in the nacre of all experimental animals.

DISCUSSION

Copper has been associated with the induction of higher proteoglycan levels in vertebrate cartilage, which is though to be accomplished by the reduction of the proteoglycan degrading enzymes expression (Davies et al., 1996). The present results on copper incubation caused, in fact, an increase of total GAG content in the shells, only lower than the one caused by Pb. It also increased total proteins level, suggesting the possibility for a proteoglycan increase. Met, Ile, Tyr, His, Arg, and Pro are the amino acid residues also increased with the copper-exposure situation, being interesting the reference to Pro, an amino acid related with the protein core of some proteoglycans (Cottrell et al., 1994).

The highest levels of both Tyr and Lys are attained in cadmium, chromium and zinc situations. Since these two amino acids have been related with quinone tanning of matrix proteins (Degens et al., 1967), it seems that the mentioned experimental situations yield a higher insolubilization degree of the organic matrix, through this process. The richness in Pro detected in the organic matrix of lead-exposed animals might suggest the contrary trend, since this amino acid is usually associated with linear coiled peptide chains (Degens et al., 1967), not so adapted to the cross-linking stabilization of bivalve shell scleroproteins (Linderstrom-Lang and Duspiva, 1936). Although the total amount of hydrophobic amino acids is not decreased, all experimental situations show a rather important decline of Gly and Ala importance for the overall content of shell's matrix. This might suggest an insoluble matrix reduction in the exposed animals, as these are the most important residues of such material (Samata, 1990).

Figures 1 to 6. SEM photographs, showing the nacreous surface of *Anodonta cygnea* shells, from animals exposed to different treatments. 1. Control situation. 2. Lead exposure. 3. Chromium exposure. 4. Copper exposure. 5. Cadmium exposure. 6. Zinc exposure. Scale bars are 10 µm.

Table 1. Total amino acid composition (average above standard deviation) of organic matrix from the nacreous layers of *Anodonta cygnea*, exposed to different treatments: control (C), heavy metals, by their international abbreviations. Values given as mg AA/mg of lyophilized organic matrix (n=2)

Group	C	Cd	Cu	Cr	Zn	Pb
PPS	3.42	4.00	3.52	4.08	2.72	2.90
	0 11	1.02	0.98	0.13	0.52	0.13
ASX	34.14	27.82	26.50	34 68	36.58	29.48
	0.08	2.09	1.27	5.11	0.76	0.32
THR	8.50	10.13	7.97	9.97	9.89	9.59
	0.31	1.49	0.80	0 05	0.06	3.50
SER	39.33	36.62	34.37	41.38	40.51	33.04
	0.22	5.00	6.08	7.19	1.40	2.01
GLX	23.69	29.67	22.24	27.84	28.61	25.71
	1.21	7.81	1.16	0 41	1.36	8 96
GLY	89.48	38.08	42.20	46 27	85.83	58.25
	2 94	6.05	5 55	11.39	3.41	29.48
ALA	74.55	42.84	45.46	52.69	73.79	51.89
	4.03	6.74	6.67	13.08	7.88	19.85
VAL	8.48	10.71	8.58	10.27	10 50	10.91
	0.93	0.81	0.87	0.67	0.61	2.55
CYS2	7.08	5.42	4.97	5 64	7.50	6 62
	1.13	0.44	0.43	0.10	0 25	0.67
MET	4 77	7.17	5.47	6.16	5.10	5.51
	0.12	0.89	0.05	0.53	0.10	2.68
ILE	5.56	8 18	6.00	7.57	6.81	7.50
	0.10	1.80	0.28	0.22	0.13	3 75
LEU	28.07	32.82	27.99	34.00	30.35	27.50
	0.47	0.03	3.71	3.75	0 29	4.90
TYR	12.46	15.44	13.91	15.81	16.07	17.86
	0.08	0.51	1.64	0.92	2.32	5 93
PHE	21.03	19.66	17.62	21.46	22.56	18.49
	0.08	1.88	3.55	2.62	1.25	0.87
LYS	16.19	18.42	14.95	18.61	18.44	15.38
	0.79	2.08	1.53	1.13	0.14	1.85
HIS	2.09	2.72	2.43	3.17	2.96	3.37
	0.32	1.34	0 67	0.24	0.07	1.72
ARG	21.36	26.63	22.09	27.37	23.61	21.87
	0 01	2.63	2 83	1.35	0 46	4 26
PRO	4.47	6.44	4.90	6.39	7.06	21.81
	0.90	1.13	0.24	0.33	0.15	15.24
TOTAL	404.66	342.78	311.18	373.35	428 87	367.68
	4.33	3.73	35.55	45.46	14.51	26.50

Table 2 Total proportions (residues per thousand) of some important groups, and calculated ratios, of amino acids from nacreous layers of *Anodonta cygnea*, exposed to different treatments. control (C), heavy metals, by their international abbreviations. Each calculation formula used is explained in the table.

Group	C	Cd	Cu	Cr	Zn	Pb
Acidic AA (Asx + Glx)	142.93	167.83	157.21	167.94	152.11	151.40
Hydroxy AA (Thr + Ser)	118.21	136.33	135.69	137.40	117.51	116.39
Basic AA (Lys+His+Arg)	97.99	139.45	127.00	132.27	104.99	111.55
Acidic/Basic	1.46	1.20	1.24	1.27	1.45	1.36
Asx/Glx	1.44	0.94	1.19	1.23	1.28	1.13
Ser/Thr	4.62	3.61	4.29	4.10	4.09	3.39
Gly + Ala	405.29	235.89	281.28	263.02	371.95	295.48
Gly/Ala	1.20	0.89	0.93	0.88	1.16	1.12
Asx/Gly	0.38	0.73	0.63	0.75	0.43	0.52
Total charged AA (B + A)	240.92	307.28	284.21	300.21	257.10	262.96
Polar AA	636.95	627.14	627.40	629.30	636.01	610.57
Hydrophobic or Non-polar AA (Pro+Ala+Val+Met+Ile+Leu+Phe)	363.05	372.86	372 60	370.70	363.99	389.43

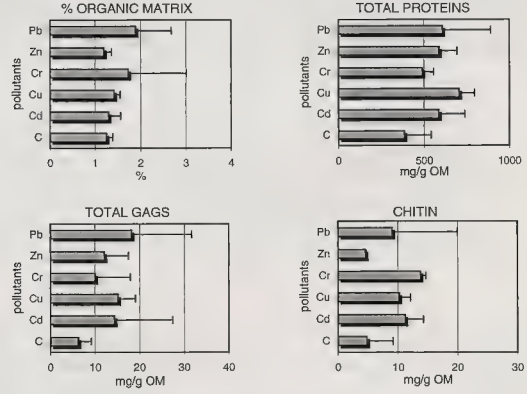


Figure 7 Organic matrix percentage, total protein, total GAG and chitin amounts in the nacre of *Anodonta cygnea* specimens (n=6) exposed to different treatments heavy metals, by their international abbreviations; and control (C).

On the other hand, total charged amino acids are increased, which also supports the previous idea. However, this feature does not necessarily mean that these shells correspond to a crystallization increase. On the contrary, it can be seen that the major amount goes to basic amino acids, which are usually associated with non mineralized structures of molluscan shells (Dauphin, 1996). The increase of acidic residues comes only as a consequence of Gly and Ala reduction, as a proportion balance, having no correspondence on the absolute level present in the shell, as easily detected in absolute results.

All experimental groups yielded lower polar amino acid proportions in comparison to control animals, and particularly those of acidic amino acids. This must reflect some degree of alteration of the mineralization trend, since the organic matrix acidity has been correlated with the overall process (Dauphin, 1996).

On the other hand, the actual presence of increased heavy metal levels can interfere with the crystallization phenomena. The presence of cadmium, for example, causes a reduction of the *in vitro* deposition rate, increasing crystals surface that becomes rather porous (Wheeler and Sikes, 1984), an effect also seen in the present SEM results, with respect to all experimental situations, with the possible exceptions of copper and zinc groups, where the last crystal's surface is not that irregular. Chitin levels, under this point of view, can appear increased in the exposed shells, simply as a result of a reduced mineral deposition, which would obviously lead to the accumulation of constantly secreted organic matrix.

Finally, the zinc group, with the less altered nacre organic composition, especially with respect to the amino acid overall composition, shows what seems to be active growing nacre layers, with no etching of the crystal surfaces and at least four single layers developing at the same time.

CONCLUSION

All the tested heavy metals yielded altered nacre depositions, with respect to morphology and organic matrix composition, except zinc. This exception supports the importance of a normal nacre organic constitution to attain a good quality of calcification, namely with respect to the proteic component, in which the amino acid balance seems to have major importance.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors which to thank Graça Casal, for her help with the scanning photographs editing. This work was supported by a JNICT grant (Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica, Portugal).

REFERENCES

Allemand D, Cuif J.P, Watabe N, Oishi M. & Kawaguchi T 1994. The organic matrix of skeletal structures of the mediterranean red coral, *Corallium rubrum Bulletin de l'Institut Océanographique* nº spécial **14**. 129-139

Bremer H.J., Duran M, Kamerling J.P., Przyrembel H. & Wadman S.K 1981 *Disturbances of Amino Acid Metabolism: Clinical Chemistry and Diagnosis*. Urban & Schwarzenberg, Baltimore, Munich.

Brine C.J. & Austin P.R. 1981. Chitin isolates: species variation in residual amino acids. *Comparative Biochemistry and Physiology* **70B**: 173-178.

Coker R.E., Shira A.F., Clark H.W. & Howard A.D. 1921. Natural history and propagation of freshwater mussels. *Bulletin of the United States Bureau of Fisheries* **37**: 75-181.

Cottrell J.M., Henderson I.F. & Wright D.J. 1994. Studies on the glycosaminoglycan component of trail mucus from the terrestrial slug, *Arion ater* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* **107B**: 285-296.

Dauphin Y. 1996. The organic matrix of coleoid cephalopod shells: molecular weights and isoelectric properties of the soluble matrix in relation to biomineralization processes. *Marine Biology* **125**: 525-529.

Davies M.E., Pasqualicchio M., Henson F. & Hernandez-Vidal G. 1996. Effects of copper and zinc on chondrocyte behaviour and matrix turnover. *Pferdeheilkunde* **12**: 367-370.

Degens E.T., Spencer D.W. & Parker R.H. 1967. Palaeobiochemistry of molluscan shell proteins. *Comparative Biochemistry and Physiology* **20**: 553-579.

Gold E.W. 1979. A simple spectrophotometric method for estimating glycosaminoglycan concentrations. *Analytical Biochemistry* **99**: 183-188.

Hewitt B.R. 1958. Spectrophotometric determination of protein in alkaline solution. *Nature* **187**: 246.

Keith J., Stockwell S., Ball D., Remillard K., Kaplan D., Thannhauser T. & Sherwood R. 1993. Comparative analysis of macromolecules in mollusc shells. *Comparative Biochemistry and Physiology* **105B**: 487-496.

Linderstrom-Lang K. & Duspiva F. 1936. Studies in enzymatic histochemistry. XVI. the digestion of keratin by larvae of clothes moth (*Tineola biselliela* Humm.). *Comptes Rendus des Travaux du Laboratoire Carlsberg*, Serie Chimie **21**: 1-82.

Lowry O.H., Rosebrough N.I., Farr A.L. & Randall R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* **193**: 263-275.

Marxen J.C. & Becker W. 1997. The organic shell matrix of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Comparative Biochemistry and Physiology* **118B**: 23-33.

Palmer A.R. 1983. Relative cost of producing skeletal organic matrix versus calcification: evidence from marine gastropods. *Marine Biology* 75: 287-292.

Palmer A.R. & Carriker M.R. 1979. Effects of cultural conditions on morphology of the shell of the oyster *Crassostrea virginica*. *Proceedings of the National Shellfisheries Association* **69**: 58-72.

Samata T. 1990. Ca-binding glycoproteins in molluscan shells with different types of ultrastructure. *Veliger* **33**: 190-201.

Wheeler A.P. & Sikes C.S. 1984. Regulation of carbonate calcification by organic matrix. *American Zoologist* **24**: 933-944.

Whiteman P. 1973a. The quantitative determination of glycosaminoglycans in urine with Alcian blue 8GX. *Biochemistry Journal* **131**: 351-357.

Whiteman P. 1973b. The quantitative measurement of Alcian blue-glycosaminoglycan complexes. *Biochemistry Journal* **131**: 343-350.

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

15 DEC. 2000

Normes diverses

Les noms de taxa devront être cités et utilisés conformément au Code International de Nomenclature Zoologique (édition de 2000). Les noms génériques ou spécifiques seront écrits en *italique*, les noms de familles ou de divisions d'un rang plus élevé, en caractères normaux. Un nom spécifique, générique ou familial apparaissant pour le première fois dans le texte devra être accompagné de son auteur et date de publication. On évitera les tournures de phrases donnant lieu à confusion entre une référence bibliographique et l'auteur et date d'un taxon.

La bibliographie comprendra toutes les références citées dans le texte, et uniquement celles-ci. Toutefois, les références citées uniquement en tant qu'auteur et date d'un taxon ne sont pas obligatoirement incluses dans la bibliographie. Les titres des périodiques doivent apparaître *in extenso*. Les références seront citées selon un des modèles suivants:

Bourguignat J.R., 1857. Aménités malacologiques. *Revue et magasin de zoologie* (2)**9:** 3-31, pl. 1-4.

Swofford D.L. & Olsen G.J., 1990. Phylogeny reconstruction. *In:* Molecular systematics. (D.M. Hillis & C. Morris, eds.) : 411-501. Sinauer Associates, Sunderland, Massachussets.

Dans le texte, on citera les références sous la forme "... selon Hall (1986)... ", " (Hall and Smith, 1986)", (Richardson *et al.*, 1985)...". Pour plusieurs articles d'un même auteur et d'une même date, on utilisera la forme "1985a, 1985b..."

Les tirés-à-part devront être commandés au moment des épreuves. Pour chaque article, 25 tirés-à-part gratuits seront envoyés aux auteurs. Des tirés-à-part supplémentaires, payants, pourront être commandés au même moment.

Comité de rédaction

Patrick ARNAUD	Station Marine d'Endoume, Rue de la Batterie des Lions, 13007 Marseille
Alan BEBBINGTON	3 Crawley Lane, Uley, Nr Dursley, Glos GL11 5 BJ, GrandeBretagne
Alain BODOY	IFREMER, Rue de l'Ile d'Yeu,B.P. 1049 - 44037 Nantes cedex 01
Pio FIORONI	Universität Münster, Institut für Spezielle Zoologie und Vergleichende Embryologie, Hüfferstraße 1, D-48149 Münster, Allemagne
Serge GOFAS	Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias Universidad de Málaga, E-29071 Málaga, Espagne <sgofas@uma.es>
Marcel LE PENNEC	Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences, 6 avenue Le Gorgeu, 29283 Brest cedex
Pierre LUBET	Laboratoire de Zoologie, I.B.B.A., Faculté des Sciences, 14032 Caen cedex
Mathieu POULICEK	Laboratoire d'Ecologie marine, Institut de Zoologie, Université de Liège, 22 Quai van Beneden, B - 4020 Liège, Belgique
JeanTARDY	Laboratoire de Biologie, Biochimie marines et Phytoécologie, IUT, Rue François de Vaux de Foletier, 17026 La Rochelle cedex
Nardo VICENTE	C.E.R.A.M., Faculté des Sciences et Techniques, de Saint Jérôme, 13397 Marseille cedex 13

Directeur de la publication: Jacques DAGUZAN, Président de la S.F.M.
Coordonnateur de ce volume: Serge GOFAS

Société Française de Malacologie - siège: 55, rue Buffon, F-75005 Paris ISSN: 0397.765 X
Imprimé en Espagne par Imagraf (Málaga) - Achevé d'imprimer le 31 octobre 2000

Sommaire

A. AIT ELABD, K. CHAABANE & M. KHARBOUA
Etude préliminaire des interactions entre adultes et juvéniles chez *Planorbarius metidjensis* (Mollusque, Planorbidae) 1

N. CHRAIBI, A. GHEIT, L. BENAZZOU & A. SADAK
Evaluation de la contamination par les métaux lourds chez les mytilidés: *Perna perna* (L.) et *Mytilus galloprovincialis* Lmk. des côtes marocaines 11

A. BOUHAIMI, M. ID HALLA, A. KAAYA, M. MATHIEU & A. MOUKRIM
Etude comparative de deux populations naturelles de moules *Perna perna* (L.) et *Mytilus galloprovincialis* Lmk. dans la baie d'Agadir (sud du Maroc): suivi de la croissance et de la dynamique de population 27

G. MOURA, L. VILARINHO, R. GUEDES & J. MACHADO
The action of some heavy metals on the calcification process of *Anodonta cygnea* (Unionidae): nacre morphology and composition changes 43